



INSTITUTO POLITÉCNICO
DE VIANA DO CASTELO

Catarina da Silva Vieito

DESENVOLVIMENTO E OTIMIZAÇÃO DE UMA BOLACHA ENRIQUECIDA COM PROTEÍNA DE ERVILHA, CÁLCIO E VITAMINA D

Mestrado em Empreendedorismo e Inovação na Indústria Alimentar

Trabalho efetuado sob a orientação da
Professora Doutora Rita Pinheiro

e sob a co-orientação da
Professora Doutora Carla Barbosa

novembro de 2016



INSTITUTO POLITÉCNICO
DE VIANA DO CASTELO

Catarina da Silva Vieito

DESENVOLVIMENTO E OTIMIZAÇÃO DE UMA BOLACHA ENRIQUECIDA COM PROTEÍNA DE ERVILHA, CÁLCIO E VITAMINA D

Mestrado em Empreendedorismo e Inovação na Indústria Alimentar

Júri

Professor Doutor António Vicente
Professor Doutor Manuel Rui Alves
Professora Doutora Rita Pinheiro

novembro de 2016

AGRADECIMENTOS

Agradeço à empresa Cerealis – Produtos Alimentares S.A., e em especial à Mestre Cláudia Lopes da I&D, pela sugestão do presente trabalho, pela disponibilidade, fornecimento de matérias-primas e disponibilização para realização da determinação da vitamina D. Também à Cristiana Fernandes, estagiária da I&D, pela paciência em ensinar-me o processo produtivo e em responder às minhas perguntas. À Formulab – Aditivos Alimentares, Lda, Nutripar e Disproquima, pela disponibilização do isolado de ervilha e lactato de cálcio, proteína do soro do leite e proteína de arroz, e vitamina D, respetivamente.

À minha orientadora, Professora Doutora Rita Pinheiro, dirijo um agradecimento muito especial pelo seu apoio e orientação. As suas preciosas sugestões e críticas, a sua disponibilidade e a forma como sempre me acompanhou foram imprescindíveis no desenvolvimento deste trabalho. Agradeço também à Professora Doutora Carla Barbosa, minha coorientadora, pela partilha de conhecimento e críticas para a obtenção dos melhores resultados na parte de análise sensorial, estudo do consumidor, aceitabilidade e na análise estatística.

À Engenheira Susana Rocha, agradeço o apoio, disponibilidade e transmissão dos seus conhecimentos durante a execução do trabalho laboratorial. À Dra. Élia Fernandes, Professor Orlando Morais e às técnicas Luísa Imperadeiro e Isabel Alves, um especial agradecimento pelo apoio na determinação do teor de cálcio, realização da Microscopia Eletrónica de Varrimento e apoio laboratorial, respetivamente.

Agradeço também ao painel de provadores do grupo de CTA, à comunidade académica da ESTG-IPVC, os utentes do Centro Social e Paroquial do Senhor do Socorro, familiares e amigos, pela participação nas provas sensoriais e de aceitabilidade, respetivamente.

À minha colega de mestrado Vanessa Martins, agradeço a companhia do início até ao fim da realização desta dissertação e por aturar todas as minhas reclamações. À Sarah Ferreira, por me fazer companhia até às tantas na escola na escrita desta dissertação. Às estagiárias Darya, Catarina e Daniela, por me ajudarem nas análises químicas e por animarem os meus dias no laboratório.

Agradeço aos meus amigos pela sincera amizade e por toda paciência que têm tido e à minha Família pelo apoio condicional e amor dedicado. Em especial aos meus irmãos, por me aturarem e compreenderem, e à minha mãe, a quem dedico esta dissertação, pelo exemplo de força e determinação, e por todo o esforço que fez para que eu pudesse chegar até aqui.

A elaboração desta dissertação conduziu à realização dos seguintes trabalhos:

Vieito, C., Barbosa C., Lopes, C., Pinheiro, R. (2016) Fortification of biscuits with protein, calcium and vitamin D and its effect on physicochemical, texture and sensory properties. 4th International ISEKI_Food Conference “Responsible Research and Innovation in the Food Value Chain” Vienna, Austria. (6-8 julho). Book of Abstracts pp357.

Vieito, C., Barbosa C., Lopes, C., Pinheiro, R. (2016) Enrichment of biscuits with whey, rice and pea proteins and its effect on physicochemical, texture and sensory properties. 1st Food Chemistry Conference. Amsterdam, Holland. Book of Abstracts (30 outubro-1 novembro) [P2.3.10].

RESUMO

Tem sido demonstrado que uma dieta nutricionalmente pobre está associada a problemas de saúde graves desencadeando doenças como a sarcopenia e osteoporose em idosos. O enriquecimento de alimentos com diversos nutrientes pode ser uma estratégia para lidar com deficiências nutricionais generalizadas.

Este trabalho tem como objetivo o desenvolvimento e otimização de uma bolacha enriquecida com proteína, cálcio e vitamina D, de forma a contribuir para a diminuição da incidência de doenças comuns em idosos. Em simultâneo foi realizado um estudo de consumidores para avaliar os hábitos de consumo da população e a respetiva aceitabilidade do produto desenvolvido.

Neste sentido, numa primeira fase do trabalho, selecionou-se a proteína mais adequada para adicionar a uma bolacha de massa *short*. Para tal, realizaram-se ensaios com três proteínas diferentes, nomeadamente proteína de soro do leite, proteína de arroz e proteína de ervilha. A quantidade de proteína a adicionar à bolacha, de forma a alegar “alto teor de proteína”, foi baseada na legislação relativa aos alimentos funcionais (Regulamento (CE) nº 1924/2006 e nº 432/2012). Após a seleção da proteína, na fase II do trabalho, foi otimizada a formulação da bolacha no sentido de a enriquecer com proteína, cálcio e vitamina D, através de um planeamento experimental fatorial de dois níveis (“fonte de” e “alto teor de”) e três fatores (proteína, cálcio e vitamina D). Em ambas as fases do trabalho foram monitorizados os parâmetros físico-químicos (atividade de água (a_w), teor de humidade, teor em cinzas, teor de proteína, teor de cálcio, teor de vitamina D, cor e dureza instrumental), microestruturais e organoléticos das bolachas. Por fim, na terceira fase do trabalho, realizou-se um estudo dos hábitos de consumo da população, e fez-se a avaliação da aceitabilidade dos consumidores das formulações desenvolvidas e otimizadas.

Relativamente à fase I concluiu-se que, a adição da proteína de soro do leite e da proteína de ervilha proporcionaram uma bolacha mais rica em minerais. No entanto, a proteína de soro do leite conferiu maior dureza à bolacha, o que foi comprovado pelo painel de provadores. Deste modo, optou-se por selecionar a proteína de ervilha como forma de enriquecimento da bolacha. Na segunda fase do trabalho, verificou-se que, de uma forma geral, a a_w e o teor de humidade foram superiores nas formulações com “alto teor em proteína”. Da mesma forma, concluiu-se que as formulações com “alto teor em proteína e/ou cálcio e/ou vitamina D” apresentaram um maior teor em cinzas. Independentemente da formulação, a adição de proteína, cálcio e vitamina D diminuiu os valores de L^* , L^*/b^* e

dureza das bolachas. Relativamente à análise por microscopia de varrimento eletrônico, concluiu-se que a adição de proteína promoveu a compactação da microestrutura da bolacha. Quanto à análise sensorial, o painel considerou as formulações com “fonte de proteína” como sendo mais duras e mais crocantes do que as restantes. Os resultados obtidos permitiram seleccionar três formulações: “fonte de proteína e cálcio e alto teor em vitamina D”, “fonte de proteína e alto teor em cálcio e vitamina D” e “alto teor em proteína, cálcio e vitamina D” para a aceitabilidade dos consumidores. A informação recolhida através do inquérito aos hábitos de consumo permitiu verificar que a maioria da população inquirida consome alimentos funcionais e 77% mostrou interesse em consumir uma bolacha enriquecida com proteína, cálcio e vitamina D. A partir do estudo da aceitabilidade, concluiu-se que as formulações com “fonte de proteína e cálcio e alto teor em vitamina D”, e “fonte de proteína e alto teor em cálcio e vitamina D” apresentaram maior aceitabilidade pelos consumidores, sem diferenças significativas entre si.

Com este trabalho concluiu-se que, independentemente das duas formulações seleccionadas, é sempre possível fazer alegações nutricionais, sabendo ainda que apresentam elevado potencial de inclusão no mercado.

PALAVRAS-CHAVE: proteína, cálcio, vitamina D, bolacha, enriquecimento, aceitabilidade

ABSTRACT

A nutritionally poor diet has been shown to be associated with serious health problems triggering diseases such as sarcopenia and osteoporosis in the elderly. Enriching foods with various nutrients may be a strategy for dealing with generalized nutritional deficiencies.

The objective of this work was the development and optimization of a functional biscuit enriched with protein, calcium and vitamin D, to contribute to a decrease in the incidence of common diseases in the elderly. A consumer study was also conducted to evaluate the consumption habits of the population and the acceptance of the developed product.

Firstly, the type of protein to be used for biscuit enrichment was selected. Thus, experiments were performed with three different proteins, whey protein, rice protein and pea protein. The amount of protein to be added to the biscuit, to claim "high in protein", was based in the regulation concerning functional foods (Regulation (EC) No. 1924/2006 and No. 432/2012). After protein selection, the biscuit formulation was optimized through a factorial design of two levels ("source of" and "high in") and three factors (protein, calcium and vitamin D). In both parts of the work, the physicochemical (water activity (a_w), moisture, ash, protein, calcium and vitamin D content, colour and instrumental hardness), microstructural and organoleptic parameters of biscuits were monitored. Lastly, a study about the consumption habits of the population was carried out, as well as the consumer's acceptance of the biscuits.

In what concerns the first part of the work, it was concluded that the addition of whey and pea protein provided a biscuit richer in minerals than with rice protein. However, whey protein contributed to a harder biscuit, which has been confirmed by the sensory panel. Thus, the pea protein was selected to enrich the biscuit. In the second part of the work, it was found that a_w and moisture content were generally higher in formulations with "high protein content". It was also concluded that formulations with "high in protein and/or calcium and/or vitamin D" presented the highest ash content. Regardless of the formulation, the addition of protein, calcium and vitamin D decreased the values of L^* , L^*/b^* and hardness of the biscuits. Regarding scanning electron microscopy, it was concluded that the addition of protein promoted a more compacted microstructure. Sensory analysis, by a trained panel showed that the "source of protein" formulations were harder and crunchier than the others. The results obtained allowed to select three formulations: "source of protein and calcium, and high in vitamin D", "source of protein, and high in calcium and vitamin D" and "high in protein, calcium and vitamin D" for the consumers' acceptance. The information collected

through the consumer habits survey showed that the majority of the surveyed population consumes functional foods and 77% showed interest in consuming a biscuit enriched with protein, calcium and vitamin D. From the consumers' acceptance, it was concluded that the formulations with "source of protein and calcium, and high content of vitamin D", and "source of protein, and high content of calcium and vitamin D" presented greater acceptance by the consumers, without significant differences between them.

With this work, it was concluded that, independently of the two formulations selected, it is always possible to make nutritional claims, knowing that they have a high potential for inclusion in the market.

KEYWORDS: protein, calcium, vitamin D, biscuit, enrichment, consumer acceptance

ÍNDICE GERAL

AGRADECIMENTOS	iii
RESUMO	vii
ABSTRACT.....	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	xv
ÍNDICE DE TABELAS	xviii
1 INTRODUÇÃO.....	1
1.1 Enquadramento	2
1.2 Objetivos	2
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	5
2.1 Alimentação sénior	5
2.2 Alimentos funcionais.....	5
2.2.1 Proteína	7
2.2.2 Cálcio	9
2.2.3 Vitamina D	11
2.3 Bolachas de massa short	13
2.3.1 Função das matérias-primas e aditivos	14
2.3.2 Processo produtivo.....	17
2.4 Estudos realizados com enriquecimento de produtos alimentares	19
3 MATERIAIS E MÉTODOS	21
3.1 Matérias-primas	21
3.2 Processo produtivo	22
3.3 Fase I – Seleção da proteína	23
3.4 Fase II – Otimização da formulação pelo método fatorial	24
3.5 Métodos analíticos	26
3.5.1 Atividade da água.....	26
3.5.2 Teor de humidade	26

3.5.3	Teor em cinzas.....	26
3.5.4	Teor de proteína.....	26
3.5.5	Teor de cálcio.....	26
3.5.6	Teor de vitamina D.....	27
3.5.7	Cor.....	27
3.5.8	Textura (Dureza).....	27
3.5.9	Microscopia de Varrimento Eletrônico (MVE).....	28
3.5.10	Análise sensorial.....	28
3.6	Fase III – Estudo do consumidor e Aceitabilidade.....	29
3.7	Análise estatística.....	30
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	31
4.1	Fase I – Seleção da proteína a usar para enriquecimento.....	31
4.1.1	Atividade da água (a_w).....	31
4.1.2	Teor de humidade.....	32
4.1.3	Teor em cinzas.....	34
4.1.4	Teor de proteína.....	34
4.1.5	Cor da superfície da bolacha (CIE $L^* a^* b^*$).....	35
4.1.6	Dureza.....	37
4.1.7	Microscopia de varrimento eletrônico (MVE).....	39
4.1.8	Análise sensorial com painel de provadores.....	40
4.1.9	Aceitabilidade com consumidores.....	42
4.2	Fase II – Otimização das formulações.....	44
4.2.1	Atividade da água.....	44
4.2.2	Teor de humidade.....	46
4.2.3	Teor em cinzas.....	47
4.2.4	Teor de proteína.....	48
4.2.5	Teor de cálcio.....	49
4.2.6	Teor de vitamina D.....	50

4.2.7	Cor da superfície das bolachas.....	52
4.2.8	Dureza	54
4.2.9	Microscopia de Varrimento Eletrónico (MVE)	55
4.2.10	Análise multivariada dos dados físico-químicos	57
4.2.11	Análise sensorial com painel de provadores	59
4.3	Fase III – Estudo do consumidor e Aceitabilidade	61
4.3.1	Aceitabilidade do público-alvo.....	69
5	CONCLUSÃO	73
6	BIBLIOGRAFIA.....	75
7	APÊNDICES	87
7.1	Apêndice I – Cálculos das quantidades de nutrientes a adicionar	87
7.1.1	Proteína	87
7.1.2	Cálcio	89
7.1.3	Vitamina D	90
7.2	Apêndice II – Resultados médios dos parâmetros analíticos	91
7.3	Apêndice III – Ficha de Prova da ADQ	93
7.4	Apêndice IV – Inquérito e prova das bolachas PSL, PA e PE.....	94
7.5	Apêndice V – Teste com consumidores – Aceitabilidade de bolachas enriquecidas com proteína de ervilha, cálcio e vitamina D	98
7.6	Apêndice VI – Tabela dos vetores próprios	105
7.7	Apêndice VII – Resultados da análise de correspondências.....	106
8	ANEXOS	107
8.1	Anexo I – Fichas técnicas dos nutrientes usados para enriquecimento	107
8.1.1	Proteína do soro do leite	107
8.1.2	Proteína de arroz.....	108
8.1.3	Isolado de ervilha	109
8.1.4	Lactato de cálcio.....	110
8.1.5	Vitamina D ₃	111

8.2	Anexo II – Boletins analíticos da determinação do teor de vitamina D	112
-----	--	-----

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 – Representação esquemática da matriz estrutural da bolacha proposta por Chevallier et al. (2000).	14
Figura 2 – Composição do grão de trigo (FoodDB, 2016).	14
Figura 3 – Fluxograma do processo produtivo da bolacha de massa short enriquecida. .	22
Figura 4 – Exemplo do gráfico obtido no teste de fratura das bolachas.....	28
Figura 5 – Variação da atividade da água para a bolacha controlo (C), com adição de proteína de soro do leite (PSL), de arroz (PA) e de ervilha (PE).	32
Figura 6 – Variação do teor de humidade para a bolacha controlo (C), com adição de proteína de soro do leite (PSL), de arroz (PA) e de ervilha (PE).	33
Figura 7 – Variação do teor em cinzas para a bolacha controlo (C), com adição de proteína de soro do leite (PSL), de arroz (PA) e de ervilha (PE).....	34
Figura 8 – Variação do teor de proteína para a bolacha controlo (C), com adição de proteína de soro do leite (PSL), de arroz (PA) e de ervilha (PE).....	35
Figura 9 – Variação dos valores de L^* (A) e de L^*/b^* (B) para a bolacha controlo (C), com adição de proteína de soro do leite (PSL), de arroz (PA) e de ervilha (PE).	36
Figura 10 – Aparência da bolacha controlo (C), com adição de proteína de soro do leite (PSL), de arroz (PA) e de ervilha (PE).....	37
Figura 11 – Variação da dureza para a bolacha controlo (C), com adição de proteína de soro do leite (PSL), de arroz (PA) e de ervilha (PE).....	38
Figura 12 – Imagens obtidas da MVE da microestrutura interna (corte lateral) para a bolacha controlo (A), com adição de proteína de soro do leite (B), de arroz (C) e de ervilha (D). Ampliação de 100x.	40
Figura 13 – Resultados da ADQ realizada pelo painel semi-treinado para a bolacha controlo (C), com adição de proteína de soro do leite (PSL), de arroz (PA) e de ervilha (PE).	40
Figura 14 – Análise de variáveis canónicas à avaliação do painel de provadores para a bolacha controlo (C), com adição de proteína de soro do leite (PSL), de arroz (PA) e de ervilha (PE).	42
Figura 15 – Aceitabilidade das formulações com adição de proteína de soro do leite (PSL), de arroz (PA) e de ervilha (PE).	44
Figura 16 – Variação da atividade da água para as bolachas enriquecidas com proteína, cálcio e vitamina D (F1 a F8), assim como da formulação controlo (C).	45
Figura 17 – Variação do teor de humidade para as bolachas enriquecidas com proteína, cálcio e vitamina D (F1 a F8), assim como da formulação controlo (C).	46

Figura 18 – Variação do teor em cinzas para as bolachas enriquecidas com proteína, cálcio e vitamina D (F1 a F8), assim como da formulação controle (C).	47
Figura 19 – Variação do teor de proteína para as bolachas enriquecidas com proteína, cálcio e vitamina D (F1 a F8), assim como da formulação controle (C).	48
Figura 20 – Variação do teor de cálcio para as bolachas enriquecidas com proteína, cálcio e vitamina D (F1 a F8), assim como da formulação controle (C).	49
Figura 21 – Variação do teor de vitamina D para as bolachas enriquecidas com proteína, cálcio e vitamina D (F1 a F8).	51
Figura 22 – Variação dos valores de L^* (A) e L^*/b^* (B) para as bolachas enriquecidas com proteína, cálcio e vitamina D (F1 a F8), assim como da formulação controle (C).	53
Figura 23 – Aparência das bolachas as bolachas enriquecidas com proteína de ervilha, cálcio e vitamina D (F1 a F8), assim como da formulação controle (C).	54
Figura 24 – Variação dos valores da dureza para as bolachas enriquecidas com proteína, cálcio e vitamina D (F1 a F8), assim como da formulação controle (C).	55
Figura 25 – Imagens obtidas da MVE da microestrutura interna (corte lateral) para as bolachas F1 a F8 (com adição de proteína), assim como a formulação controle (C, sem adição de proteína). Ampliação de 500x.	57
Figura 26 – Representação dos componentes principais (CP 1 vs CP 2) aplicada aos dados das análises físico-químicas das bolachas da fase II com projeção dos casos (formulações).	58
Figura 27 – Resultados da ADQ realizada pelo painel semi-treinado para as formulações do planejamento experimental (F1 a F8).	59
Figura 28 – Análise de variáveis canônicas dos dados da análise sensorial das bolachas do planejamento experimental.	60
Figura 29 – Concordância com os alimentos funcionais segundo os intervalos de idades (36-45, 46-55, 56-65, 66-75 e mais de 75).	65
Figura 30 – Frequência do consumo de alimentos funcionais.	67
Figura 31 – Influência da fortificação dos alimentos no sabor – comparação entre estudos.	68
Figura 32 – Interesse em consumir uma bolacha enriquecida com proteína, cálcio e vitamina D.	69
Figura 33 – Diagramas de dispersão interquartílica da aceitabilidade das formulações com adição de proteína de ervilha, cálcio e vitamina D (323 – F7, 542 – F8 e 896 – F5).	70
Figura 34 – Análise de correspondências das pontuações dos provadores na aceitabilidade das bolachas, categorizados pelo sexo e faixa etária (amostras: 323 – F7, 542 – F8 e 896	

– F5; género: feminino (F) e masculino (M); intervalo de idades: 36-45, 46-55, 56-65, 66-75, >75 – mais de 75)..... 72

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela I – Diferentes tipos de alimentos funcionais (Siró et al., 2008).....	6
Tabela II – Principais vantagens do consumo de proteínas do soro do leite, ervilha e arroz (Babault et al., 2015; Gani et al., 2015; Liutkevicius et al., 2016).....	9
Tabela III – Estudos realizados com enriquecimento de produtos alimentares.	20
Tabela IV – Principais características da proteína do soro do leite, de arroz, de ervilha e lactato de cálcio utilizados no processo de enriquecimento.	21
Tabela V – Formulações da fase I: Controlo (formulação base); PSL (formulação com adição de proteína do soro do leite); PA (formulação com adição de proteína de arroz); PE (formulação com adição de proteína de ervilha).	24
Tabela VI – Planeamento experimental da fase II.	24
Tabela VII – Formulações da fase II.....	25
Tabela VIII – Características sociodemográficas e hábitos de consumo dos inquiridos (n=38).	43
Tabela IX – Respostas dos indivíduos ao inquérito aos hábitos de consumo (n=382).....	62
Tabela X – Resultados do teste não paramétrico Kruskal-Wallis realizado aos resultados da aceitabilidade das amostras 323, 542 e 896. Os valores em itálico são estatisticamente diferentes ($p<0,05$).	71
Tabela XI – Informação nutricional da formulação base.....	87
Tabela XII – Valores médios dos resultados obtidos nos parâmetros analíticos analisados nas bolachas da fase I.	91
Tabela XIII – Resultados obtidos nos parâmetros analíticos analisados nas bolachas da fase II.	92
Tabela XIV – Vetores próprios da análise de componentes principais relativa à fase II.	105
Tabela XV – Matriz com os resultados da análise de correspondências.	106

1 INTRODUÇÃO

A percentagem de cidadãos na União Europeia acima dos 65 anos de idade está a aumentar e segundo dados de 2014, este grupo representa cerca de 18,5% da população total. Em 2014, 20,3% da população portuguesa estava acima dos 65 anos de idade, tornando Portugal no quarto país da União Europeia com mais idosos (Madeira *et al.*, 2016). Contudo, um aumento da esperança média de vida não significa necessariamente um aumento na qualidade de vida pelo que esta mudança demográfica pede um maior esforço para assegurar a qualidade de vida da população mais velha (Giacalone *et al.*, 2016; Madeira *et al.*, 2016).

A sarcopenia é uma doença relacionada com o envelhecimento sendo caracterizada por uma perda progressiva de massa muscular esquelética, força e desempenho físico. As causas são multifatoriais e incluem um estilo de vida sedentário e uma ingestão inadequada de proteína (Tieland *et al.*, 2012).

A osteoporose, uma doença esquelética sistemática caracterizada por uma baixa massa óssea, é um grande problema de saúde nos estados membros da União Europeia devido à alta incidência de fraturas por fragilidade, especialmente fraturas do quadril e vertebrais. Os dois nutrientes essenciais para a saúde óssea são o cálcio e a vitamina D (Gennari, 2001).

Atualmente os alimentos não se destinam apenas a satisfazer a fome e a fornecer os nutrientes necessários para o ser humano, mas também a prevenir doenças relacionadas com a nutrição e aumentar o bem-estar físico e mental dos consumidores, sendo que estes têm vontade de alterar os seus hábitos de consumo (Menrad, 2003). Deste modo, surge a necessidade de alimentos direcionados para os consumidores mais velhos, o segmento de consumidores com maior crescimento mundial (Giacalone *et al.*, 2016). Cria-se uma oportunidade para os alimentos funcionais que são alimentos com uma função adicional benéfica de prevenção de doença e promoção da saúde, para além das funções de nutrição básica e sensorial (EUFIC, 2006).

O consumo de alimentos ricos em nutrientes é recomendado para os seniores de forma a prevenir deficiências nutricionais e pensa-se que é um dos pré-requisitos para um envelhecimento saudável (Doets *et al.*, 2016).

As bolachas são um dos produtos de pastelaria mais populares entre todos os consumidores, independentemente do seu *status* económico. Isto deve-se ao facto de serem um produto pronto-a-consumir que pode ter um elevado valor nutricional, estando disponíveis numa grande variedade, para além de serem económicas (Mieszkowska *et al.*, 2015).

1.1 ENQUADRAMENTO

Sabe-se que os problemas que decorrem do avanço da idade, afetam negativamente a ingestão de alimentos das pessoas mais velhas em termos de qualidade e quantidade (Doets *et al.*, 2016). Deste modo, surge a necessidade de alimentos “feitos à medida” para os seniores com o objetivo de melhorar a qualidade e a quantidade da ingestão de alimentos.

O presente trabalho insere-se numa parceria com a empresa Cerealis – Produtos Alimentares, S.A. A Cerealis é uma empresa vocacionada para a produção e comercialização de produtos destinados ao consumidor final, nomeadamente massas alimentícias, bolachas, cereais de pequeno-almoço, farinhas de usos culinários e produtos refrigerados.

Este trabalho de mestrado pretende desenvolver uma bolacha que ajude na prevenção de diversas doenças, como a sarcopenia e a osteoporose, através do seu enriquecimento com os nutrientes necessários e adequados – proteína, cálcio e vitamina D, respetivamente.

1.2 OBJETIVOS

O presente trabalho teve como objetivo o desenvolvimento e otimização de uma formulação de bolacha funcional direcionada aos consumidores seniores, com possibilidade de alegações nutricionais e de saúde referentes ao teor de proteína, cálcio e vitamina D. Para tal, foi estudado o efeito da adição de proteína, cálcio e vitamina D nas características físico-químicas, microestruturais, organoléticas e aceitabilidade das bolachas produzidas.

O trabalho desenvolvido contemplou as seguintes atividades:

- Seleção do tipo de proteína a adicionar à massa de bolacha: proteína de soro do leite, de arroz e de ervilha, através do estudo do efeito da respetiva adição nas características físico-químicas, microestruturais e organoléticas das bolachas;

- Planeamento experimental, segundo um desenho fatorial de três fatores e dois níveis (2^3), no qual se estudou o efeito da concentração de proteína, cálcio e vitamina D nas características físico-químicas, microestruturais e organoléticas das diferentes formulações;
- Estudo dos hábitos de consumo da população relativamente a bolachas funcionais, e avaliação da aceitabilidade dos consumidores com as bolachas otimizadas.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 ALIMENTAÇÃO SÊNIOR

O aumento da esperança média de vida nos países desenvolvidos reflete-se no crescimento da população acima dos 65 anos. Em 2014, 20,3% da população portuguesa estava acima dos 65 anos de idade, tornando Portugal no quarto país da União Europeia com mais idosos. Segundo o Instituto Nacional de Estatística, Portugal é ainda considerado o quinto país com o índice de envelhecimento¹ mais elevado da UE 28 (INE, 2015). Contudo, um aumento da esperança média de vida não significa necessariamente um aumento na qualidade de vida (Madeira *et al.*, 2016).

Foi demonstrado que a má nutrição em idosos está associada a resultados de saúde adversos e graves incluindo um aumento do risco de mortalidade, hospitalização e um aumento do tempo de permanência, quedas e fraturas, cicatrização prolongada de feridas e institucionalização (Winter *et al.*, 2013). Deste modo, uma dieta e um *status* nutricional adequados são fatores de saúde importantes. Uma nutrição adequada pode prevenir, atrasar ou melhorar significativamente uma grande proporção de doenças crónicas que afetam os mais velhos, encerrando o potencial para promover um envelhecimento mais saudável e mais ativo (Madeira *et al.*, 2016).

2.2 ALIMENTOS FUNCIONAIS

O enriquecimento de alimentos com nutrientes pode ser uma estratégia para lidar com as deficiências nutricionais generalizadas, pois tem mais hipótese de chegar aos segmentos populacionais de maior risco, em contraste com as tentativas de mudar escolhas alimentares dos indivíduos ou depender da toma voluntária de suplementos (Rafferty *et al.*, 2007). Este tipo de alimentos é denominado de “alimentos funcionais” que são definidos como alimentos que são consumidos como parte de uma dieta regular, que contém compostos biologicamente ativos que proporcionam uma função adicional benéfica de prevenção de doença e promoção da saúde (redução do risco de doenças e/ou melhoria do bem-estar físico e mental do consumidor), para além das funções de nutrição básica e

¹ Número de pessoas com 65 e mais anos por cada 100 pessoas menores de 15 anos (PORDATA, 2016).

sensorial (EUFIC, 2006). Na Tabela I encontram-se descritos os diferentes tipos de alimentos funcionais.

Tabela I – Diferentes tipos de alimentos funcionais (Siró *et al.*, 2008).

Tipo de alimento funcional	Definição	Exemplos
Alimentos fortificados	Aumento do conteúdo dos nutrientes já existentes	Sumos de fruta fortificados com vitamina C
Alimentos enriquecidos	Adição de novos nutrientes ou componentes que não estão normalmente presentes no alimento	Margarina com esteróis vegetais
Alimentos alterados	Remoção, redução ou substituição de componentes existentes nocivos para a saúde por componentes mais benéficos	Substitutos de gordura ricos em fibras
Alimentos melhorados	Alimentos em que um dos componentes foi melhorado naturalmente através de condições especiais de crescimento, nova composição da alimentação animal, manipulação genética, entre outros.	Ovos com maior conteúdo de ómega 3 conseguido por alteração da alimentação das galinhas

A produção e venda de alimentos funcionais requer especificações legais, relacionadas com a utilização de novos ingredientes, havendo ainda a considerar aspetos de rotulagem relativos a alegações nutricionais e de saúde. Estas são discutidas em comités próprios do *Codex Alimentarius*, em que participa a União Europeia (Martins *et al.*, 2004). As alegações nutricionais e de saúde permitidas encontram-se descritas no Regulamento (UE) nº 1924/2006 e no Regulamento (UE) nº 432/2012, respetivamente.

O desenvolvimento e comércio dos alimentos funcionais é complexo, caro e arriscado, uma vez que têm de responder a requisitos especiais. Além dos potenciais obstáculos tecnológicos, os aspetos legislativos, assim como as necessidades do consumidor devem ser tidos em consideração quando se está a desenvolver um alimento funcional. Em particular, a aceitabilidade do consumidor é um fator chave para negociar com sucesso oportunidades de mercado (Siró *et al.*, 2008).

O envelhecimento afeta claramente a perceção dos alimentos, por isso a indústria alimentar, ao desenvolver produtos para o segmento de consumidores seniores, deve ter em consideração os efeitos da idade na perceção e gosto dos seus produtos para ser

capaz de desenvolver e oferecer alimentos que vão ao encontro das necessidades e desejos do consumidor sénior (Doets *et al.*, 2016; Giacalone *et al.*, 2016). Idealmente, quando os alimentos estão alinhados com os requisitos dos seniores, estes alimentos específicos serão consumidos mais frequentemente e contribuirão assim para uma ingestão de nutrientes adequada, que é benéfica para a saúde e o bem-estar (Doets *et al.*, 2016).

De forma a completar informação acerca dos idosos surge, em Portugal, o projeto PEN-3S² promovido pela Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa que tem por finalidade contribuir para o conhecimento do estado nutricional e dos hábitos dos idosos Portugueses (≥ 65 anos), assim como para o desenvolvimento de um sistema eletrónico de vigilância epidemiológica deste fenómeno de saúde (PEN-3S, 2016). O conhecimento do estado nutricional dos idosos é essencial para a promoção e manutenção de um envelhecimento saudável (Madeira *et al.*, 2016).

2.2.1 PROTEÍNA

As proteínas são componentes essenciais de todas as células do corpo humano e ajudam a manter o sistema imunitário, produzem músculos, transportam moléculas e agilizam reações bioquímicas, entre outras funções (van der Zanden *et al.*, 2014).

Durante o tempo de vida adulta, a massa corporal aumenta devagar e progressivamente até cerca dos 70 anos de idade, sendo que depois começa a decrescer. Um aumento da incidência de deficiências físicas e comorbidades³ está provavelmente ligado a mudanças associadas à idade. A caracterização do processo de envelhecimento identificou a sarcopenia como sendo a perda de massa muscular, vigor e força (Gallagher *et al.*, 2005a). Esta doença pode aparecer aos 40 anos de idade, aumentando significativamente até aos 80 anos, resultando muitas vezes em 50% ou mais de perda de força muscular (Arthur *et al.*, 2012). Deste modo, manter a função da massa muscular durante o tempo de vida até à velhice é essencial para uma vida independente e saudável (Baum *et al.*, 2015). A má nutrição é um fator sério para a sarcopenia uma vez que a maior parte dos idosos não consome proteína suficiente segundo a dose diária de referência (DDR).

² *Portuguese Elderly Nutritional Status Surveillance System*, em português “Sistema Português de Vigilância Nutricional dos Idosos”

³ Presença simultânea de duas doenças ou mais num paciente.

Alguns estudos sugeriram que um aumento da ingestão de proteína e atividade física pode ser uma estratégia viável para abrandar a sarcopenia (Giacalone *et al.*, 2016). A ingestão de proteína superior à quantidade necessária, para evitar um balanço negativo de azoto, pode prevenir a sarcopenia, ajudar a manter o balanço de energia, melhorar a saúde dos ossos, função cardiovascular e cicatrização de feridas (Baum *et al.*, 2015).

Há três aspetos importantes a ter em consideração quando se discute a qualidade da proteína: as características da proteína específica, a matriz do alimento em que a proteína é consumida e as características dos indivíduos que consomem o alimento (exemplo: idade, estado de saúde, estado psicológico e balanço de energia) (Baum *et al.*, 2015). Os aminoácidos essenciais, especialmente os de cadeia ramificada interferem na regulação metabólica da síntese de proteína muscular e, entre eles, a leucina atua como um mediador positivo da síntese de proteína (Bertolin *et al.*, 2013). Deste modo, o perfil de aminoácidos é um fator chave do potencial funcional da proteína, pois proteínas com perfis de aminoácidos diferentes exibem taxas de digestão e absorção também diferentes. A disponibilidade de aminoácidos depende diretamente da qualidade e da quantidade da fonte de azoto dietética (Baum *et al.*, 2015). Isto é suportado por vários estudos demonstrando que a ingestão de proteínas do leite estimula a síntese de proteína muscular a uma grande extensão depois de exercício de resistência quando comparada à ingestão de proteína de soja (Mitchell *et al.*, 2015). A utilização de outros tipos de proteína para estímulo da síntese de proteína muscular, como por exemplo, proteína de ervilha e proteína de arroz, foi também estudada e não se verificaram diferenças entre estas e a proteína do soro do leite (Babault *et al.*, 2015; Joy *et al.*, 2013).

Relativamente às doses diárias de referência (DDR) atuais para ingestão de proteína na União Europeia, o Regulamento (UE) nº 1169/2011 indica 50 g para um adulto médio (8400 kJ/2000 kcal). Contudo, as recomendações atuais não conseguem resolver as necessidades de condições clínicas como lesões, hospitalização, cirurgia, entre outros, que são comuns em seniores. Estas têm sido apontadas como consequência da falta de ingestão de proteína acima dos níveis recomendados (Baum *et al.*, 2015). Mesmo ingerindo o valor diário recomendado de proteína, os idosos têm um músculo menos sensível a estímulos metabólicos, uma condição conhecida como resistência anabólica (Bauer *et al.*, 2015). Kim *et al.* (2015) verificaram que a síntese de proteína foi maior quando se duplicou o valor diário recomendado sem diferença significativa entre padrões de refeição, o que indica a necessidade de recomendações específicas para idosos.

O Regulamento (UE) nº 1169/2011 refere, no artigo 36º, ponto 3, alínea c), “A Comissão deve adotar atos de execução relativos (...) à indicação das doses de referência para grupos específicos da população e das doses de referência definidas no anexo XIII”. Entretanto em 2012, a EFSA publicou uma opinião científica relativa ao valor diário de referência (VDR) para a proteína e estabeleceu, para as faixas etárias 18-59 e ≥60, uma necessidade média⁴ e uma ingestão de referência da população⁵ de 0,66 e 0,83 g/kg de massa corporal por dia, respetivamente. O painel também considerou que diversos problemas de saúde encontrados podem estar associados com a baixa ingestão de proteína. No entanto, os dados disponíveis foram considerados insuficientes para ajudar no estabelecimento do VDR (EFSA, 2012).

Na Tabela II encontram-se as principais vantagens em consumir as proteínas do soro do leite, de ervilha e de arroz.

Tabela II – Principais vantagens do consumo de proteínas do soro do leite, ervilha e arroz (Babault *et al.*, 2015; Gani *et al.*, 2015; Liutkevicius *et al.*, 2016).

Proteína do soro do leite	Proteína de ervilha	Proteína de arroz
– Valor nutricional elevado	– Hipoalergénica	– Hipoalergénica
– Proteína completa	– Boa digestibilidade	– Boa digestibilidade
– Fácil e rápida de digerir	– <i>Vegan</i>	– <i>Vegan</i>
– Fornece <i>flavour</i> , textura, cor	– Rica nos aminoácidos de cadeia ramificada	– Antioxidantes, vitamina B e fibra
– Propriedades de aeração	– Alto conteúdo de lisina	– Alto conteúdo de cisteína e metionina
	– Gorduras mais saudáveis (vegetais)	– Gorduras mais saudáveis (vegetais)

2.2.2 CÁLCIO

O cálcio é um dos minerais principais que constituem o osso, sendo essencial um fornecimento adequado em todas as fases da vida (Prentice, 2004). A sua presença é

⁴ Nível de ingestão adequado para metade dos indivíduos, assumindo-se a distribuição normal das necessidades (em inglês, *Average Requirement – AR*) (EUFIC, 2013).

⁵ Nível de ingestão adequado para virtualmente todos os indivíduos, ou seja, ingestão ótima para a população, enquanto um todo (em inglês, *Population Reference Intake – PRI*) (EUFIC, 2013).

fundamental para a estrutura e função do metabolismo do osso, funções musculares, pressão sanguínea, densidade óssea, processo de coagulação, e liberação de neurotransmissores (Liutkevicius *et al.*, 2016). O cálcio do esqueleto tem a função adicional de atuar como um fornecimento de reserva para satisfazer as necessidades metabólicas do corpo, em estados de deficiência de cálcio (Nordin, 1997). Contudo, a longo prazo, o uso persistente de cálcio armazenado nos ossos para este propósito sem o “reabastecimento” adequado vai resultar na perda de densidade óssea (Allen *et al.*, 2005).

A osteoporose é uma doença que afeta milhões de pessoas em todo o mundo. É caracterizada pela baixa massa óssea e deterioração da microarquitetura do tecido do osso, levando a um aumento da fragilidade do osso e consequente aumento do risco de fratura (Prentice, 2004). Tanto um pico de massa óssea baixo como uma taxa alta de perda óssea representam fatores de risco para a osteoporose e fraturas osteoporóticas (Gennari, 2001).

A Organização Mundial de Saúde (OMS) identificou a deficiência em cálcio como sendo um dos problemas mais importantes de saúde (WHO, 2004). A deficiência em cálcio dos idosos pode estar parcialmente associada à diminuição da eficiência de absorção de cálcio relacionada com a idade (Gennari, 2001).

Uma ingestão adequada de cálcio é crítica para alcançar o pico de massa óssea nas primeiras décadas de vida, a retenção de massa óssea durante a idade adulta média, e a minimização da perda óssea durante as últimas décadas, prevenindo a osteoporose (Allen *et al.*, 2005; Liutkevicius *et al.*, 2016). Um estudo verificou que a ingestão de cálcio em mulheres na menopausa reduz, em média, a perda óssea em 1%, mas que o cálcio sozinho não é suficiente para tratar a osteoporose (Gennari, 2001). A absorção de cálcio é afetada pelo *status* de vitamina D. Nordin (1997) verificou que a absorção de cálcio era baixa em pacientes com deficiência em vitamina D.

Fontes ricas em cálcio incluem produtos lácteos, vegetais selecionados (espinafre, beterraba branca, chicória e brócolos), legumes, nozes, peixe e alimentos enriquecidos com cálcio (EFSA, 2015). O enriquecimento de alimentos com cálcio já foi estudado por alguns autores: em sumo de laranja (Gonnelli *et al.*, 2007), sumo de maçã (Russell *et al.*, 2010) e pão (Ziadeh *et al.*, 2005).

A escolha dos sais de cálcio para enriquecimento dos produtos alimentares é dependente da sua compatibilidade com o processo de fabrico, o possível efeito nos atributos sensoriais e na estabilidade do produto (Liutkevicius *et al.*, 2016).

No Regulamento (CE) nº 1925/2006 relativo à adição de vitaminas, minerais e determinadas outras substâncias aos alimentos, consta uma lista no anexo II, ponto 2, com as diferentes formas de cálcio que são possíveis adicionar aos alimentos. Alguns exemplos são o carbonato de cálcio, gluconato de cálcio, lactato de cálcio e sulfato de cálcio.

A DDR atual para ingestão de cálcio na União Europeia, encontra-se no Regulamento (UE) nº 1169/2011 relativo à prestação de informação aos consumidores sobre os géneros alimentícios, sendo 800 mg para um adulto médio (8400 kJ/2000 kcal).

A Opinião Científica publicada pela EFSA, em 2015, relativamente aos valores de referência dietéticos de cálcio refere que a ingestão média de cálcio em adultos (≥ 18 anos) variou entre 690 e 1122 mg/dia (8 estudos). Os valores médios de ingestão foram mais altos em homens do que em mulheres, como resultado de um maior consumo de alimentos por dia (EFSA, 2015).

Segundo a Opinião Científica, relativamente ao procedimento de autorização para as alegações de saúde para o cálcio e vitamina D e a redução do risco de fraturas osteoporóticas através da redução da perda óssea nos termos do artigo 14 do Regulamento (CE) nº 1924/2006, é referido que deve ser consumido diariamente, pelo menos, 1200 mg de cálcio e 800 IU (20 μ g) de vitamina D com a finalidade de definir as condições de utilização de uma alegação de redução de riscos na perda de densidade de massa óssea que pode contribuir para uma redução do risco de fratura óssea (EFSA, 2010).

2.2.3 VITAMINA D

As duas formas principais da vitamina D (calciferol) são a vitamina D₂ e vitamina D₃. A vitamina D₂ (ergocalciferol) é de origem vegetal sendo produzida exogenamente por irradiação do ergosterol (precursor da vitamina D₂) e adicionada a alimentos. A vitamina D₃ (colecalciferol) é sintetizada na pele do ser humano por ação do sol e também consumida na dieta através da ingestão de alimentos de origem animal. As duas formas diferem na estrutura da cadeia lateral, contudo esta diferença não afeta o seu metabolismo (ativação) (Medicine, 2011). A vitamina D, em ambas as formas, é considerada biologicamente inativa até que passa por duas reações de hidroxilação enzimática e é convertida na sua forma biologicamente ativa, calcitriol (1,25-dihidroxitamina D). Esta é responsável pela

manutenção da homeostase do cálcio⁶ e pela saúde do osso (Holick, 2005). A vitamina D é uma vitamina essencial, solúvel em gordura, necessária para uma absorção eficiente do cálcio (Liutkevicius *et al.*, 2016).

Os idosos têm tendência a ter deficiência em vitamina D porque a sua pele tem menor capacidade em sintetizá-la através do sol e também porque tendem a passar menos tempo ao sol. Outros fatores que podem influenciar esta deficiência são a má nutrição e a diminuição da hidroxilação renal da vitamina D (Gennari, 2001).

A síntese de vitamina D na pele, por ação do sol, é insuficiente para atingir a DDR dos países europeus, especialmente durante o inverno em que há pouca exposição ao sol (Liutkevicius *et al.*, 2016).

A vitamina D está naturalmente presente em poucos alimentos, sendo que as fontes dietéticas de vitamina D apenas fornecem uma pequena fração dos requisitos diários. Os peixes de água salgada como o arenque, salmão, sardinha e óleo de fígado de peixe são as principais fontes dietéticas (WHO/FAO, 2006). A gema do ovo também tem um alto conteúdo em vitamina D₃ que está relacionado com o conteúdo em vitamina D₃ da alimentação das galinhas. O conteúdo em vitamina D na carne varia e depende, entre outras coisas, do conteúdo em vitamina D na forragem, da quantidade de gordura e também da latitude onde os animais pastaram (EFSA, 2016). Como o consumo destes alimentos tende a ser baixo, nos países industrializados a maior parte da vitamina D dietética provém de leite e manteiga fortificados (WHO/FAO, 2006).

Na presença de osteoporose, a insuficiência em vitamina D pode potenciar a perda de massa óssea e assim aumentar o risco de fratura. Deste modo, uma ingestão adequada de tanto cálcio como vitamina D, em qualquer idade, mas particularmente nos idosos, é importante para a preservação da massa óssea e prevenção da osteoporose (Gennari, 2001).

Relativamente à DDR atual para ingestão de vitamina D na União Europeia, o Regulamento (UE) nº 1169/2011 relativo à prestação de informação aos consumidores sobre os géneros alimentícios indica 5 µg para um adulto médio (8400 kJ/2000 kcal). Em março de 2016, a EFSA publicou uma opinião científica relativamente aos valores

⁶ A homeostase do cálcio refere-se à regulação da concentração dos iões cálcio no fluido extracelular (Linder, 2016).

dietéticos de referência e indica uma ingestão adequada de 15 µg/dia de vitamina D para adultos (EFSA, 2016).

2.3 BOLACHAS DE MASSA *SHORT*

As bolachas são um produto à base de cereais, geralmente farinha de trigo, que é cozido até um teor de humidade inferior a 5%. À componente cereal são adicionados mais dois ingredientes maioritários, açúcar e gordura, sendo que as combinações com os ingredientes minoritários são praticamente infinitas (Manley, 2000f). A massa é ligada com água, contudo à medida que se inclui mais gordura, menos água é necessária na sua composição (Manley, 1998b).

As formas de agrupar as bolachas, baseiam-se no nome (biscoitos, *crackers*, *cookies*, ...), tendo em consideração a sua textura e dureza, no método de formação da bolacha (fermentadas, laminadas, extrudidas, ...) ou na adição de gordura e açúcar (Manley, 2000e). Outra forma de classificar as bolachas é através da distinção entre os tipos de massa, *hard* ou *short*. A diferença é determinada pela quantidade de água necessária para se obter a massa (Manley, 1998b). As massas *short*⁷ resultam em bolachas que tendem a tornar-se mais extensas em largura e comprimento quando são cozidas em vez de encolher, como acontece com outros tipos de bolachas. O controlo deste aumento de tamanho ou “espalhamento” (*spread*) é o maior problema do processo produtivo (Manley, 2000f).

Chevallier *et al.* (2000) sugerem que a estrutura da bolacha é uma matriz composta por agregados de proteína, lípidos e açúcares, que incorporam os grânulos de amido (Figura 1).

⁷ *Short dough* em inglês. Também pode ser chamada de massa areada.

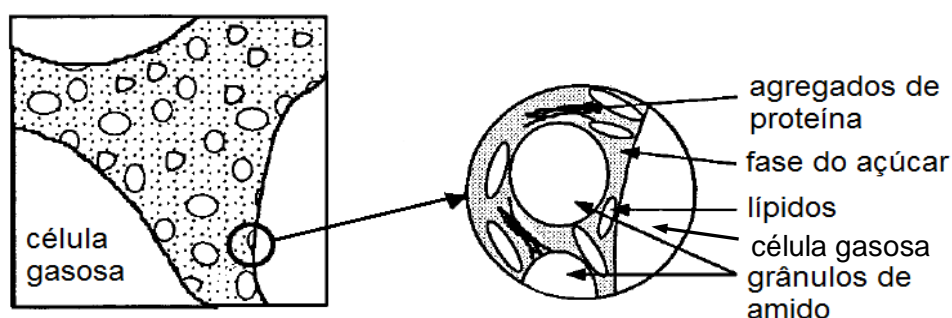


Figura 1 – Representação esquemática da matriz estrutural da bolacha proposta por Chevallier *et al.* (2000).

2.3.1 FUNÇÃO DAS MATÉRIAS-PRIMAS E ADITIVOS

Neste subcapítulo são apresentadas as matérias-primas e os aditivos mais usados neste tipo de bolachas, assim como a explicação da sua função tecnológica.

2.3.1.1 Farinha

A farinha é o ingrediente em maior quantidade da formulação da massa da bolacha e consiste majoritariamente em amido (70-75%), água (~14%) e proteína (8-11% na farinha de trigo mole) (Pareyt *et al.*, 2008). É produzida através da remoção do farelo e do gérmen do grão de trigo e posterior moagem (Figura 2) (Manley, 1998a).

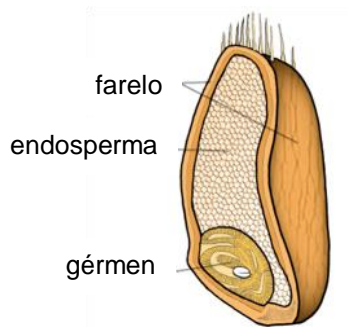


Figura 2 – Composição do grão de trigo (FooDB, 2016).

A farinha fornece a matriz à qual outros ingredientes de endurecimento ou amolecimento, em proporções variadas, são misturados para formar a massa (Pareyt *et al.*, 2008). O trigo moído pode ser classificado como duro, médio ou mole, baseado no caráter físico do grão de trigo. Os níveis de proteína no trigo mole são tipicamente baixos e a proteína fornece um glúten que é menos resistente à deformação e mais extensível antes de ser quebrado (Manley, 2000a). As bolachas produzidas a partir de trigo mole têm melhor aparência e características de textura, resultando em bolachas mais suaves do que as que são produzidas a partir de trigo duro (Pareyt *et al.*, 2008).

2.3.1.2 Sacarose

A sacarose é usada para conferir doçura, mas também para modificar a estrutura e o *flavour* da bolacha. No processo de mistura e manipulação da massa, o açúcar e a farinha competem pela água disponível inibindo a formação de glúten, o que afeta bastante a consistência da massa (Pareyt *et al.*, 2008). A sacarose também ajuda a incorporar ar na gordura e mantém a humidade, contribuindo também para a expansão da massa (Pareyt *et al.*, 2008).

Geralmente, nas formulações de massas *short* não há água suficiente para permitir que todo o açúcar se dissolva, pelo que o tamanho dos cristais de sacarose afeta as características de textura das bolachas. Quando a massa é aquecida no forno formam-se camadas de açúcar fundido que consolidam ao arrefecer conferindo dureza à bolacha. Se for adicionado à formulação xarope de glucose, a dureza pode ser reduzida a um dado nível de sacarose (Manley, 1998a). Desta forma, a sacarose afeta bastante a textura da bolacha, uma vez que quanto maior a sua concentração, mais dura a bolacha. Afeta também o “espalhamento” das massas *short* à medida que cozem, a aparência e o carácter estaladiço da bolacha cozida (Manley, 2000b).

2.3.1.3 Gordura

A gordura sólida contribui para a plasticidade da massa e atua como um lubrificante. Quando está presente em grande quantidade, o seu efeito lubrificante é tão pronunciado que pouca ou nenhuma água é necessária para atingir uma consistência macia (*soft*) (Maache-Rezzoug *et al.*, 1998). A gordura é a responsável pela ligação de todos os ingredientes na massa (Pareyt *et al.*, 2008).

Durante a mistura da massa, os componentes líquidos da massa e a gordura competem pela superfície da farinha. Os componentes líquidos da massa, na ausência da gordura iriam interagir com a proteína da farinha para criar uma rede de glúten coesa e extensível, contudo quando a gordura está presente, rodeia as proteínas e os grânulos de amido, isolando-os, interrompendo assim a continuidade da estrutura de proteína e amido (Ghotra *et al.*, 2002; Manley, 2000c). Desta forma, a gordura afeta as propriedades de textura da massa, resultando em bolachas descritas como pouco duras (Pareyt *et al.*, 2008). Outra função da gordura é aprisionar o ar para obter um efeito semelhante à fermentação e criação de volume (Manley, 2000c).

2.3.1.4 Xarope de açúcar

Os xaropes de açúcar são monossacarídeos com propriedades redutoras em reações químicas, derivam, normalmente, de sacarose ou de amido através da sua hidrólise⁸, sendo a glucose, o monossacarídeo mais usado (Manley, 1998a). As suas funções são o fornecimento de açúcares redutores para aumentar a cor da superfície da bolacha através da reação de *Maillard*⁹ e conferir uma textura crocante sem doçura significativa, durante a cozedura. Os xaropes de açúcar são também usados como humectantes, ou seja, para prevenir a perda de água pelos alimentos, e então evitar que a sua textura seja demasiado dura e frágil (Manley, 2000b).

2.3.1.5 Sal

O sal comum (sal de cozinha) é quase inteiramente cloreto de sódio (NaCl), sendo que 3% são impurezas (Belitz *et al.*, 2009). É usado em produtos de panificação para conferir sabor e porque tem propriedades que aumentam o *flavour* (Manley, 2000d). Quando adicionado a produtos de panificação potencia o sabor doce, porque na presença de sódio ocorrem diversas reações bioquímicas com a glucose, fazendo com que o cérebro humano registre o sabor doce com mais intensidade (Stein, 2011).

A concentração de 1-1,5%, com base na quantidade de farinha, é considerada a mais adequada nas bolachas, contudo a um nível superior a 2,5%, o sabor torna-se desagradável (Manley, 1998a).

2.3.1.6 Agentes químicos de fermentação

Os agentes de fermentação são um grupo de sais predominantemente inorgânicos que quando adicionados à massa reagem para produzir gases que formam o núcleo para o desenvolvimento da textura da bolacha durante a cozedura (Manley, 2000d).

– Bicarbonato de sódio

Na presença de humidade, o bicarbonato de sódio reage com qualquer material ácido para libertar dióxido de carbono, decompondo-se em sal de sódio e água. Como muitos ingredientes das bolachas (incluindo a farinha) promovem reações ácidas, é útil usar o

⁸ Reação química que envolve a quebra de moléculas por ação da molécula de água (Manley, 2000f).

⁹ Reação química que ocorre entre açúcares redutores e aminoácidos das proteínas e que provoca uma cor acastanhada na superfície dos produtos de panificação. Quanto maior a concentração dos açúcares redutores, mais escuras as cores produzidas. Esta reação também é chamada de acastanhamento não enzimático (Manley, 1998a).

bicarbonato de sódio como um meio de ajustar o pH da massa e da bolacha resultante (Manley, 2000d).

– Bicarbonato de amónio

O bicarbonato de amónio é usado porque se decompõe completamente quando aquecido, dividindo-se em amónia e dióxido de carbono gasosos, e água. É solúvel em água e é bastante alcalino dando origem a massas macias que requerem menos água para uma dada consistência, promovendo também a extensão da massa quando no forno. À semelhança do bicarbonato de sódio, o bicarbonato de amónio é usado quando há a necessidade de ajustar o pH (Manley, 2000d).

2.3.1.7 Água

A água é um ingrediente muito importante durante todo o processo de fabrico, pois apesar de ser um ingrediente minoritário e de ser praticamente removida durante a cozedura, tem de ser adicionada para que ocorra a solubilização dos outros ingredientes e para ajudar na dispersão da gordura e outros ingredientes na massa, contribuindo para a sua estruturação (Maache-Rezzoug *et al.*, 1998; Manley, 2000d).

O nível de água usado para a produção da massa da bolacha influencia o desenvolvimento de glúten na massa, a extensão da bolacha durante a cozedura, a retenção de humidade, e a qualidade de ingestão do produto final (Pareyt *et al.*, 2008). Se a proporção de água for muito baixa, a massa torna-se demasiado frágil, sem consistência, e exhibe um efeito de crosta marcada devido a uma rápida desidratação à superfície (Maache-Rezzoug *et al.*, 1998). À medida que mais água é retirada pela farinha, menos água está disponível para dissolver a sacarose e, portanto, a viscosidade é mais elevada sendo que a bolacha se estende a uma taxa mais lenta (Pareyt *et al.*, 2008). Manley (2000d) refere que a produção de bolachas é mais eficiente se for utilizada pouca água.

2.3.2 PROCESSO PRODUTIVO

Da mesma forma que existem inúmeras formulações de bolachas, também existem vários processos para produzir a massa da bolacha. Nas bolachas de massa *short* o objetivo principal é que, durante a amassadura, se forme o mínimo possível de glúten, embora deva haver uma dispersão adequada de todos os ingredientes (Manley, 2000f).

Para se obter uma maior qualidade do produto final, a obtenção da massa deve ser dividida em duas etapas, primeiro a preparação do “creme” e depois a mistura deste com a farinha (Hoseney, 1998). O “creme” é, usualmente, constituído por gordura, sacarose, xarope de

açúcar, sal, agentes químicos de fermentação (bicarbonato de sódio e bicarbonato de amônio) e água. O “creme” dissolve o máximo de açúcar possível na água disponível, para dispersar e dissolver os outros ingredientes e emulsificar tudo com a gordura, assim como aprisionar ar (Manley, 2000f). A segunda etapa consiste na mistura da farinha com o “creme”. Nesta etapa o tempo de mistura é crítico na prevenção do desenvolvimento do glúten e no endurecimento da massa (Manley, 1998b).

Uma vez obtida a massa, é desejável que esta repouse durante algum tempo pois encontra-se muito macia e “pegajosa” para se conseguir manusear eficazmente. Nesta etapa a consistência da massa altera-se. Durante este período, a água é absorvida passivamente pelo amido e proteína da farinha, resultando numa massa menos pegajosa. Se esta não repousar durante, pelo menos, 30 minutos, pode ocorrer endurecimento, devido à agitação no equipamento usado para formar as bolachas, o que resultará em bolachas mais duras (Manley, 2000f).

Após esta etapa prossegue-se para a laminagem e formação das peças de massa que depois de cozidas darão origem às bolachas.

O tempo de cozedura depende da espessura da peça de massa e é, geralmente entre 5 a 20 minutos. A cozedura causa uma expansão da massa para formar a textura desejada (Manley, 2000f). As reações que ocorrem durante esta etapa são bastante complexas, envolvendo a desnaturação proteica, perda de estrutura granular do amido, fusão da gordura, reações de *Maillard* e acastanhamento, expansão da massa por evaporação da água, e produção e expansão térmica dos gases (Chevallier *et al.*, 2002). Miller *et al.* (1997) mostraram que, durante a cozedura, o diâmetro das bolachas aumentava linearmente com o tempo e de repente colapsava. Isto acontece porque a massa quente é rica em líquidos açucarados gordos que são viscosos o suficiente para permitir a retenção do vapor de água, mas não fortes o suficiente para permanecer como estrutura quando a humidade é perdida para a atmosfera do forno (Manley, 2000f). A taxa de expansão é também influenciada pelos componentes da massa de ligação à água (Pareyt *et al.*, 2008).

Durante a cozedura das bolachas, como resultado de uma transferência de massa e calor, o teor de humidade da massa das bolachas diminui, a superfície das bolachas seca e a temperatura da superfície aproxima-se da temperatura do ar envolvente. Isto leva ao desenvolvimento de condições de alta temperatura e baixa humidade na superfície da bolacha na altura em que o teor de humidade global é reduzido para o nível desejado no produto final (~3% por peso) (Palazoglu *et al.*, 2015).

2.4 ESTUDOS REALIZADOS COM ENRIQUECIMENTO DE PRODUTOS ALIMENTARES

A Tabela III apresenta alguns estudos realizados com alimentos funcionais semelhantes ao da presente dissertação e as suas principais conclusões.

Através da tabela verifica-se que não existe nenhum estudo com enriquecimento de bolachas com proteína, cálcio e vitamina D. Contudo, existem alguns trabalhos com bolachas enriquecidas apenas com proteína (geralmente, proteína do soro do leite) ou apenas com cálcio. É possível verificar também a existência de um trabalho realizado com uma bebida enriquecida com cálcio e vitamina D.

Gallagher *et al.* (2005b) e Marques *et al.* (2016) concluíram que a adição de proteína (5 a 15%) e o aumento da sua concentração produziu bolachas mais escuras, verificando-se a diminuição da luminosidade (L^*).

No que se refere à dureza das bolachas, Gallagher *et al.* (2005b) concluíram que a adição de proteína aumentou a sua dureza, ao contrário de Marques *et al.* (2016) que verificou que a adição de proteína não influenciou significativamente a dureza das bolachas ($p>0,05$).

Também Açar *et al.* (2012) verificaram que a adição de cloreto e lactato de cálcio à massa das bolachas promoveu o aumento da crocância nas bolachas.

Marques *et al.* (2016) também observaram que quanto maior quantidade de proteína adicionada às bolachas, maior o teor de humidade no produto final indicando a capacidade da proteína se ligar à água.

Tabela III – Estudos realizados com enriquecimento de produtos alimentares.

Produto	Componentes adicionados	Análises realizadas	Principais conclusões	Autores
Bolacha enriquecida	5,10 e 15% Proteína do soro do leite 5,10 e 15% Proteína de caseinato de sódio	Massa: TPA e microscopia confocal Bolacha: dureza, % humidade, a_w , cor da superfície, dimensões e extensão	A adição das proteínas provocou bolachas mais acastanhadas (L^* baixo). A adição de proteína do soro do leite causou encolhimento da bolacha. Quanto maior a concentração de proteína, maior a dureza.	Gallagher <i>et al.</i> (2005b)
Bolacha enriquecida	Substituição da farinha por 25,9 – 54,1 g proteína do soro do leite/100 g	Perda de peso, dimensões, fator de expansão, volume específico, teste de aceitabilidade, % humidade, azoto, cinzas, lípidos, HC, a_w , cor, firmeza, análise microbiológica	Quanto maior a concentração de proteína do soro do leite, maior a % humidade. Alimentos com proteína do soro do leite têm capacidade de ligação à água o que pode explicar a falta de variação da a_w nos T5 e T8 porque ambos apresentaram teor de humidade e a_w maior que o controlo. Os valores de a^* e b^* aumentaram com a adição de proteína do soro do leite, e o valor de L^* diminuiu. A dureza das bolachas variou de 27 a 37 N, contudo o conteúdo em proteína não afetou a textura.	Marques <i>et al.</i> (2016)
Bolacha enriquecida	Substituição: farinha por aveia, gordura hidrogenada por gordura de palma Adição: L-leucina, cálcio (30% DDR)	Índice de expansão da massa, volume específico, cor, análise sensorial (ADQ®), %humidade, proteína, lípidos, cinzas, HC, quantificação do cálcio e L-leucina, quantificação dos ácidos gordos	A adição de aveia provocou um escurecimento das bolachas, devido a um maior conteúdo de proteína. As formulações com cores muito claras ou muito escuras foram classificadas com pontuações mais baixas para a aparência geral.	Bertolin <i>et al.</i> (2013)
Bolacha enriquecida	Adição de cloreto de cálcio e lactato de cálcio	Análise da quantidade de acrilamida, hidroximetilfurural e asparagina, análise sensorial e cor ($L^*a^*b^*$, ΔE).	A adição dos derivados de cálcio à formulação das bolachas aumentou a luminosidade (L^*) da sua superfície, enquanto a cor amarela (b^*) apenas aumentou em algumas amostras. A adição de cálcio provocou uma textura mais crocante, quando comparada ao controlo.	Açar <i>et al.</i> (2012)
Bebida funcional enriquecida	150 mg Cálcio (fosfato e lactato) 0,75 µg Vitamina D ₃ 2,5 g Fibra dietética prebiótica	Cor ($L^*a^*b^*, h^*C^*$), análise sensorial (ADQ®), concentração: colesterol e triglicérides, plasma glucose, fibrinogénio no plasma sanguíneo, proteína C-reativa	Os preparados de cálcio adicionados não afetaram significativamente a cor das bebidas na análise visual. O fosfato de cálcio afetou mais a diminuição da aceitabilidade nos atributos de sabor e textura ao longo do armazenamento. O lactato de cálcio foi mais adequado na matriz alimentar testada.	Liutkevicius <i>et al.</i> (2016)

3 MATERIAIS E MÉTODOS

No presente capítulo encontram-se descritas as matérias-primas utilizadas, o processo produtivo, o planeamento experimental, o estudo do consumidor, assim como todos os métodos analíticos aplicados.

O presente trabalho encontra-se dividido em três fases, a fase I na qual se selecionou a proteína (proteína do soro do leite, proteína de arroz ou proteína de ervilha) a adicionar à bolacha, a fase II, que consistiu num planeamento experimental para otimização do enriquecimento da bolacha com proteína, cálcio e vitamina D. Nestas duas etapas do trabalho, foram monitorizados os parâmetros físico-químicos, microestruturais e organoléticos das diversas formulações obtidas. Finalmente, a fase III, consistiu na avaliação da aceitabilidade dos consumidores (com as bolachas obtidas na fase I e na fase II) assim como, no estudo dos hábitos de consumo da população.

3.1 MATÉRIAS-PRIMAS

A farinha de trigo T65, glucose, gordura de palma, bicarbonato de sódio e bicarbonato de amónio foram fornecidos pela Cerealis – Produtos Alimentares, S.A. O açúcar (Sidul) e o sal (Vatel) foram adquiridos no mercado local. As restantes matérias-primas utilizadas para o enriquecimento das bolachas produzidas, foram fornecidas pela empresa Formulab – Aditivos Alimentares, Lda, nomeadamente, o isolado de ervilha (Cosucra) e lactato de cálcio (Galactic), pela empresa Nutripar, a proteína de arroz (Beneo) e a proteína do soro do leite (Ferrer), e pela empresa Disproquima, a vitamina D₃ cristalina (DSM). Na Tabela IV encontram-se as principais características de alguns aditivos acima referidos.

Tabela IV – Principais características da proteína do soro do leite, de arroz, de ervilha e lactato de cálcio utilizados no processo de enriquecimento.

Caraterísticas	Proteína do soro do leite	Proteína de arroz	Proteína de ervilha	Lactato de Cálcio
Pureza	93%	79%	88%	13%
Cinzas	2 – 3%	0 – 2%	0 – 6%	
Cor	Branca	Branca	Creme (escuro)	Branca

3.2 PROCESSO PRODUTIVO

Na Figura 3 encontra-se o fluxograma do processo produtivo da bolacha de massa *short* enriquecida.

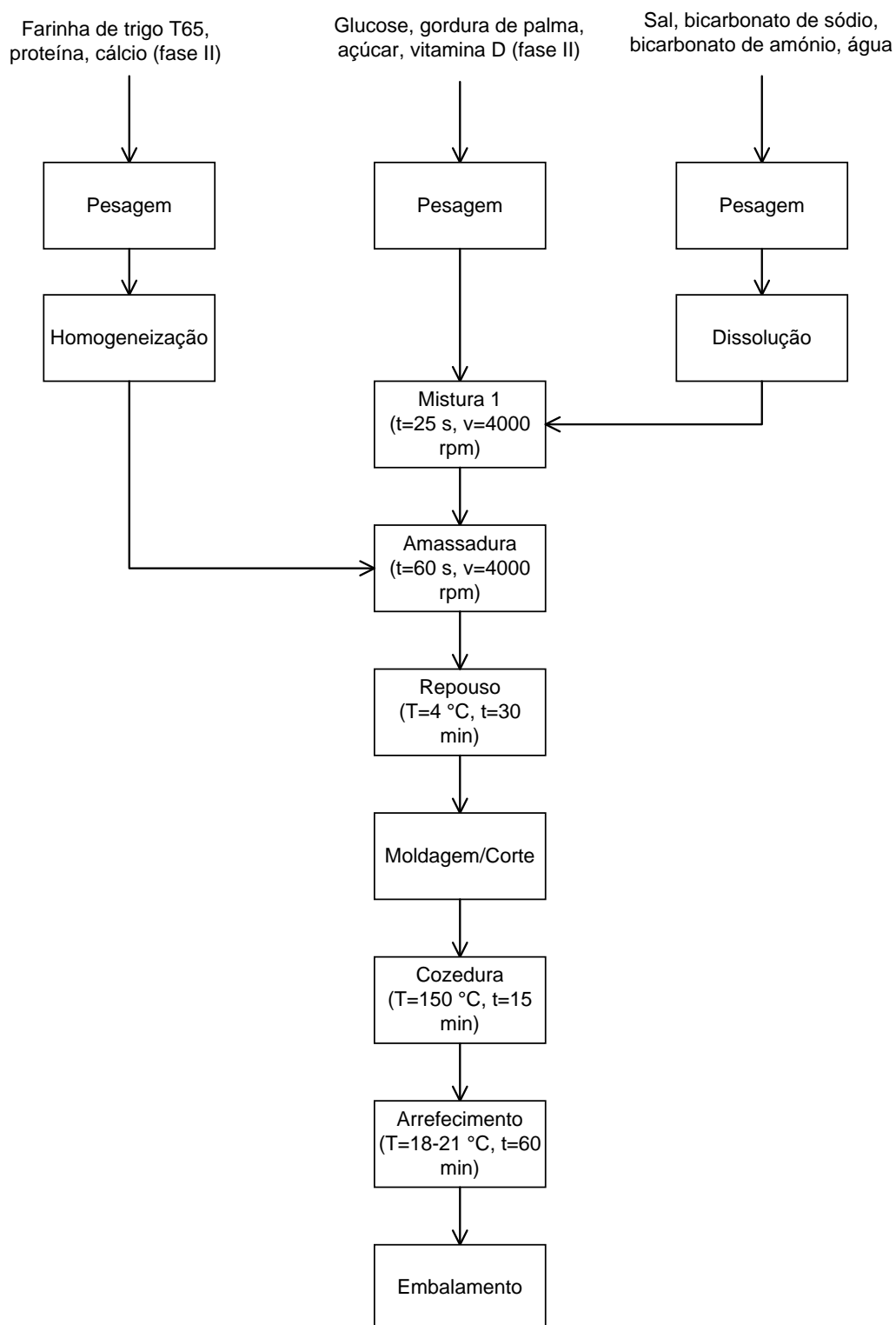


Figura 3 – Fluxograma do processo produtivo da bolacha de massa *short* enriquecida.

O processo começa pela pesagem da glucose, gordura de palma, açúcar e vitamina D (apenas na fase II) que se introduzem na misturadora fechada Termomix TM31 (Vorwerk, Alemanha). Pesa-se o sal, o bicarbonato de sódio e o bicarbonato de amônio para um recipiente e a esta mistura adiciona-se água. Após dissolução junta-se à mistura anterior, a uma velocidade de 4000 rpm durante 25 segundos. Esta emulsão de gordura/água/açúcar/sais é intitulada de “creme”. De seguida, pesa-se a farinha, a proteína e o cálcio (apenas na fase II) conforme as formulações descritas na Tabela V e Tabela VII, para a fase I e fase II, respetivamente. A farinha, a proteína e o cálcio (apenas na fase II) são homogeneizadas e, posteriormente, adicionadas à misturadora. Esta mistura é amassada durante 60 segundos à velocidade de 4000 rpm. A massa obtida é armazenada durante 30 minutos a 4 °C (repouso) e posteriormente, dividida em porções com um diâmetro de 48 mm e uma espessura de 5 mm, usando um tubo formador de bolachas. De seguida as porções são colocadas num forno convetor industrial (Fagor, Espanha) durante 15 minutos a 150 °C. As bolachas produzidas (em média 34 bolachas por cada 300 g) foram armazenadas em sacos de vácuo PA/PE 20/70, selados hermeticamente, 60 minutos após terem sido retiradas do forno (arrefecimento), e armazenadas à temperatura ambiente ao abrigo da luz.

3.3 FASE I – SELEÇÃO DA PROTEÍNA

Nesta parte do trabalho, estudaram-se três proteínas diferentes nomeadamente, a proteína do soro do leite (PSL), a proteína de arroz (PA) e o isolado de ervilha (PE), tendo sido também realizado um controlo (formulação base da bolacha de massa *short* sem adição de proteína). A descrição da formulação, relativamente às quantidades adicionadas de cada ingrediente encontra-se na Tabela V. De referir que a formulação base (controlo) foi, gentilmente, fornecida pela empresa Cerealis – Produtos Alimentares S.A..

A quantidade de proteína adicionada foi baseada no Regulamento (CE) nº 1924/2006, relativo às alegações nutricionais e de saúde sobre os alimentos, de forma a ser possível alegar “alto teor em proteína”. Esta alegação só pode ser feita quando, pelo menos, 20% do valor energético do alimento for fornecido por proteína.

Assim, de acordo com o regulamento, foram adicionados 18,60 g de proteína. O valor da quantidade de proteína a adicionar, foi retirado na quantidade de farinha da formulação base (cálculos realizados encontram-se no Apêndice I).

Tabela V – Formulações da fase I: Controlo (formulação base); PSL (formulação com adição de proteína do soro do leite); PA (formulação com adição de proteína de arroz); PE (formulação com adição de proteína de ervilha).

Ingredientes (g/100 g)	Controlo	PSL	PA	PE
Glucose	0,83	0,83	0,83	0,83
Gordura de Palma	16,20	16,20	16,20	16,20
Açúcar	19,94	19,94	19,94	19,94
Sal	0,50	0,50	0,50	0,50
Bicarbonato de sódio	0,08	0,08	0,08	0,08
Bicarbonato de amónio	0,12	0,12	0,12	0,12
Farinha de trigo	62,32	42,32	38,77	41,18
Proteína de soro do leite	-	20,00	-	-
Proteína de arroz	-	-	23,54	-
Proteína de ervilha	-	-	-	21,14
Água	10,39	12,27	12,34	19,19

3.4 FASE II – OTIMIZAÇÃO DA FORMULAÇÃO PELO MÉTODO FATORIAL

Depois de selecionada a proteína na fase I, a fase II consistiu num planeamento experimental aplicando-se um desenho fatorial de três fatores, proteína, cálcio e vitamina D e dois níveis, “fonte de” e “alto teor em”, segundo o Regulamento (CE) nº 1924/2006.

Os diversos ensaios do planeamento experimental podem ser consultados na Tabela VI.

Tabela VI – Planeamento experimental da fase II.

Ensaio	Proteína	Cálcio	Vitamina D
Controlo (fase I)	0	0	0
F1	Fonte de	Fonte de	Fonte de
F2	Alto teor em	Fonte de	Fonte de
F3	Fonte de	Alto teor em	Fonte de
F4	Alto teor em	Alto teor em	Fonte de
F5	Fonte de	Fonte de	Alto teor em
F6	Alto teor em	Fonte de	Alto teor em
F7	Fonte de	Alto teor em	Alto teor em
F8	Alto teor em	Alto teor em	Alto teor em

Relativamente à quantidade de proteína, o Regulamento (CE) nº 1924/2006 indica que para se poder usar a alegação “fonte de proteína”, pelo menos 12% do valor energético do alimento tem de ser fornecido por proteína. Relativamente à alegação “alto teor em proteína”, aplica-se o que já foi referido no subcapítulo 3.3.

No que se refere ao teor de cálcio e ao teor de vitamina D, segundo o Regulamento (CE) nº 1924/2006, para se poder alegar “fonte de cálcio/vitamina D” o produto tem de conter, pelo menos, a quantidade significativa definida no Anexo da Diretiva 90/496/CEE, entretanto revogada pelo Regulamento (UE) Nº 1169/2011. No anexo XIII, na “Parte A–2” do regulamento supracitado está indicado que a quantidade significativa corresponde a 15% dos valores de referência do nutriente indicados na “Parte A – 1” fornecido por 100 g no caso de produtos que não sejam bebidas. Para se alegar “alto teor em cálcio/vitamina D” o produto tem de conter, pelo menos, o dobro do teor exigido para a alegação “Fonte de vitamina(s)/mineral(is)”, portanto 30% dos valores de referência.

Neste sentido, determinaram-se os valores de cada um dos constituintes a adicionar de forma a respeitar os regulamentos (cálculos realizados encontram-se no Apêndice I). Na Tabela VII é possível consultar as quantidades adicionadas de cada ingrediente.

Tabela VII – Formulações da fase II.

Ingredientes (g/100 g)	Ensaaios								
	C	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8
Glucose	0,83	0,83	0,83	0,83	0,83	0,83	0,83	0,83	0,83
Gordura de palma	16,20	16,20	16,20	16,20	16,20	16,20	16,20	16,20	16,20
Açúcar	19,94	19,94	19,94	19,94	19,94	19,94	19,94	19,94	19,94
Sal	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Bicarbonato de sódio	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08
Bicarbonato de amónio	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12	0,12
Farinha de trigo	62,32	48,72	40,27	47,80	39,35	48,72	40,27	47,80	39,35
Proteína de ervilha	-	12,68	21,14	12,68	21,14	12,68	21,14	12,68	21,14
Lactato de cálcio	-	0,92	0,92	1,83	1,83	0,92	0,92	1,83	1,83
Vitamina D (µg)	-	0,75	0,75	0,75	0,75	1,50	1,50	1,50	1,50
Água	10,39	15,43	23,10	15,37	22,67	15,78	21,33	15,56	20,71

3.5 MÉTODOS ANALÍTICOS

Neste subcapítulo encontram-se descritos os métodos analíticos aplicados nas bolachas obtidas em ambas as fases. As análises foram realizadas após arrefecimento da amostra.

3.5.1 ATIVIDADE DA ÁGUA

A determinação da atividade da água (a_w) foi realizada na amostra previamente triturada e homogeneizada recorrendo a um medidor portátil Pawkit (Decagon, EUA). A análise foi realizada em triplicado.

3.5.2 TEOR DE HUMIDADE

O teor de humidade foi determinado pelo método AOAC 925.10 (AOAC, 1995d). Uma amostra (3 g) de cada formulação foi colocada numa estufa (Heraeus, Alemanha) a 130 °C até peso constante. A análise foi realizada em triplicado.

3.5.3 TEOR EM CINZAS

O teor em cinzas foi determinado pelo método AOAC 935.39-B (AOAC, 1995a). Uma amostra (3 g) de cada formulação foi colocada numa mufla (Heraeus, Alemanha) a 550 °C até redução a cinzas. A análise foi realizada em triplicado.

3.5.4 TEOR DE PROTEÍNA

O teor de proteína foi determinado pelo método *Kjeldahl*, descrito pela AOAC 935.39-C (AOAC, 1995b). Para a determinação recorreu-se a uma unidade de digestão (Buchi, Suíça) e uma unidade de destilação Vapodest (Gerhardt, Alemanha).

A conversão do teor de azoto total em teor de proteína bruta foi obtida através do fator de conversão padrão (6,25) (Jones, 1941). Os resultados são apresentados em percentagem. A análise foi realizada em triplicado.

3.5.5 TEOR DE CÁLCIO

A determinação do teor de cálcio foi realizada segundo o método de Espectrofotometria de Absorção Atômica descrito pela AOAC 945.41 usando um espectrofotómetro (Varian SpetrAA.A.300, EUA) para a formulação controlo e para as formulações da fase II (planeamento experimental) (AOAC, 1995c). A análise foi realizada em triplicado.

3.5.6 TEOR DE VITAMINA D

A quantificação de vitamina D₃ foi realizada recorrendo ao método HPLC/UV-VIS, método EN 12821:09. De referir que esta análise foi realizada pela empresa Siliker Portugal, S.A. Não foram realizadas réplicas.

3.5.7 COR

Para a determinação da cor utilizou-se um colorímetro Minolta CR-300 (Konica Minolta, USA) utilizando o sistema CIE L* a* b*.

Previamente à determinação da cor das amostras, procedeu-se à calibração do colorímetro. Para tal, recorreu-se à placa própria para o efeito, sendo que os valores presentes no mostrador: L* = 97,06; a* = +5,28; b* = -3,49; indicavam que a calibração tinha sido efetuada corretamente.

Posteriormente procedeu-se à determinação da cor das amostras, posicionando-se o medidor no centro das mesmas e registando os valores (L* a* b*) obtidos. Para cada tipo de amostra efetuaram-se dez leituras (Gallagher *et al.*, 2005b).

Foi calculada a razão L*/b* que representa a cor amarelada de produtos de panificação (Gallagher *et al.*, 2003).

3.5.8 TEXTURA (DUREZA)

A textura das bolachas foi analisada usando um texturómetro TA.XT.plus (Stable Microsystems, Reino Unido) acoplado com uma célula de carga 0,49 N e a aquisição de dados com consequente registo de força foi realizada através do *software* “Exponent”. Na avaliação da dureza, foi usada a sonda “*three point bending*” (HDP/3PB) e as condições experimentais foram: distância entre os dois suportes da base da plataforma de 38 mm, distância de penetração da sonda de 5 mm e uma velocidade teste de 4 mm/s (Palazoglu *et al.* (2015)). Registou-se a força máxima (N) que é proporcional à dureza da bolacha (Figura 4). A textura das amostras foi analisada com 10 réplicas para cada formulação.

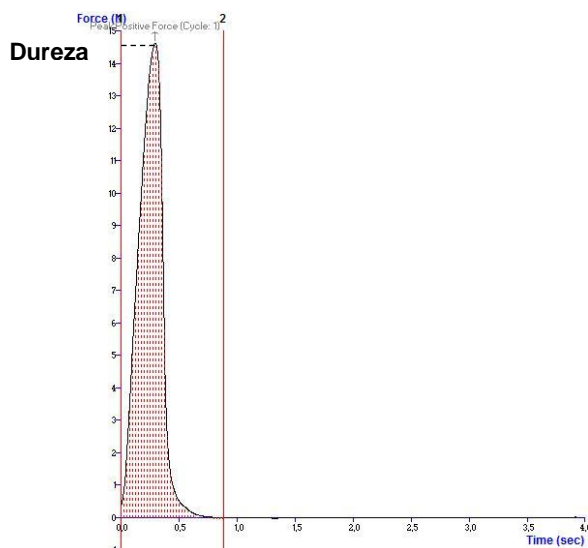


Figura 4 – Exemplo do gráfico obtido no teste de fratura das bolachas.

3.5.9 MICROSCOPIA DE VARRIMENTO ELETRÔNICO (MVE)

Foi realizado o estudo da microestrutura interna das bolachas usando um microscópio eletrônico de varrimento (Hitachi SU1510, Japão) numa ampliação de 100x (fase I) e uma ampliação de 500x (fase II), a uma voltagem de 10 kV. Foram cortadas amostras com 5 mm de espessura de cada bolacha. Processaram-se imagens do plano de secção transversal da estrutura das bolachas usando o software do próprio equipamento.

3.5.10 ANÁLISE SENSORIAL

Foi realizada uma análise descritiva quantitativa (ADQ) às bolachas da fase I e da fase II recorrendo a um painel semi-treinado de 6 provadores, que habitualmente participa em sessões de análise sensorial do laboratório de Qualidade Alimentar da ESTG. Os atributos sensoriais avaliados foram a rugosidade da superfície, dureza ao partir a bolacha, friabilidade, crocância, dureza (na boca), sabor residual e sabor diferente, avaliados numa escala de intensidade de 9 pontos (1 – intensidade mais baixa e 9 – intensidade mais alta) (Stone *et al.*, 2004).

O painel de provadores recrutado, foi previamente submetido a uma sessão de aquecimento, com soluções para identificação e ordenação de sabores básicos por intensidade (*ranking*), segundo a ISO 8587 (ISO, 2006). A ficha de prova foi definida nas sessões seguintes onde foi realizado o levantamento das propriedades organoléticas mais relevantes, recorrendo a diferentes amostras de bolachas: formulação base produzida em laboratório, produto correspondente no mercado e ainda dois produtos semelhantes de

marcas “brancas”. Foram também definidas escalas, âncoras verbais e respectivos padrões para cada atributo (Apêndice III).

3.6 FASE III – ESTUDO DO CONSUMIDOR E ACEITABILIDADE

Foram realizados testes de aceitabilidade para as bolachas produzidas nas diferentes fases (I e II) e ainda um estudo com consumidores para aferir os hábitos de consumo de bolachas, nomeadamente de bolachas funcionais.

3.6.1.1 Aceitabilidade de bolachas funcionais

Para as bolachas enriquecidas com proteína do soro do leite, proteína de arroz e proteína de ervilha (fase I), um total de 38 pessoas, da comunidade académica do IPVC, até 65 anos de idade participou no estudo. Cada consumidor recebeu 3 bolachas (PSL, PE e PA), apresentadas simultaneamente, codificadas com três algarismos aleatórios. A aceitabilidade do consumidor foi avaliada, de uma forma global, usando uma escala hedónica de 9 pontos (1 – extremamente desagradável a 9 – extremamente agradável) (Peryam *et al.*, 1957). Em simultâneo com o teste de aceitabilidade, os consumidores responderam a um pequeno questionário para caracterização sociodemográfica. A ficha de prova encontra-se no Apêndice IV.

Nas bolachas da fase II, enriquecidas com diferentes concentrações de proteína de ervilha, cálcio e vitamina D, participaram no estudo um total de 51 pessoas a partir 46 anos, sendo 8 homens e 43 mulheres. Participaram pessoas do Centro Social Paroquial do Senhor do Socorro, da comunidade académica do IPVC e familiares. Cada consumidor recebeu 3 bolachas (F5, F7 e F8), apresentadas simultaneamente numa única sessão após preenchimento de um questionário para caracterização sociodemográfica, perfil do consumidor e padrão de consumo. As amostras foram codificadas com 3 dígitos aleatórios. A aceitabilidade do consumidor foi avaliada como referido anteriormente para as bolachas enriquecidas com diferentes proteínas (fase I). A ficha de prova encontra-se no Apêndice V.

3.6.1.2 Hábitos de consumo de bolachas funcionais

No estudo com consumidores, foi realizado um inquérito aos hábitos de consumo de bolachas em especial, consumo de bolachas funcionais. O inquérito realizado, cuja estrutura se apresenta no Apêndice V, foi construído no sentido de se apurar informação sobre a posição do consumidor relativamente aos alimentos funcionais e o seu padrão de consumo de bolachas, assim como bolachas com alegações funcionais. O inquérito esteve

disponível desde 21 de setembro até 9 de novembro de 2016, tendo participado 382 pessoas, sendo 101 homens e 281 mulheres. Trata-se de um inquérito majoritariamente de resposta fechada, composto por 21 questões, divididas em 3 secções nomeadamente, caracterização demográfica e socioeconómica (7 questões), perfil do consumidor (9 questões) e padrão de consumo (5 questões).

Dessas questões, uma parte (da 8ª à 16ª do inquérito em anexo) destina-se à recolha de informação acerca da percepção que o consumidor tem do seu estado de saúde, da sua preocupação com o consumo de alimentos que contribuem para um bom estado de saúde, assim como a frequência desse consumo. As questões foram baseadas num estudo de consumidores de alimentos funcionais publicado pela *International Food Information Council Foundation* (IFIC, 2013).

Outras questões (da 17ª a 21ª) visaram recolher informação acerca do padrão e do tipo de bolachas consumidas, as características que o consumidor considera mais relevantes nas bolachas e o interesse em consumir uma bolacha enriquecida com proteína, cálcio e vitamina D (Steptoe *et al.*, 1995).

3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram analisados recorrendo a diferentes ferramentas estatísticas. Para estudar as diferenças entre formulações, aplicou-se aos resultados uma análise de variância (*one-way* ANOVA) e testes *post-hoc* de Tukey quando pelo menos uma das formulações era diferente. Considerou-se diferenças estatisticamente significativas para um intervalo de confiança de 95%, $p < 0,05$. Foi também aplicada uma análise de componentes principais (ACP) para determinar correlações entre os parâmetros analisados (fase II). Aos dados da análise sensorial foi aplicada uma análise de variáveis canónicas (AVC), com grupos a representar os produtos e as opiniões dos provadores, usadas como réplicas para cada produto. O estudo de consumidores gerou um tipo de dados que foi analisado recorrendo à representação gráfica das medianas e distâncias interquartílicas (“caixas e bigodes”) e o estudo das diferenças recorrendo aos testes de Kruskal-Wallis para dados não paramétricos (Barbosa *et al.*, 2011). Aplicou-se ainda uma análise de correspondências baseada nas tabelas de Burt para um conjunto de dados (Greenacre, 1984). A análise estatística foi realizada recorrendo ao *software* STATISTICA v 7.0 (StatSoft, EUA).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A realização deste trabalho teve como principal objetivo o desenvolvimento de uma bolacha funcional direcionada aos consumidores seniores. Numa primeira fase do trabalho selecionou-se a proteína (proteína do soro do leite, de arroz ou de ervilha) a adicionar à bolacha. Posteriormente, e numa segunda fase, através de um planeamento experimental, optimizou-se a bolacha de forma a reunir alegações nutricionais e de saúde no que se refere ao teor de proteína, cálcio e vitamina D. Simultaneamente, foram estudadas as características físico-químicas, microestruturais e sensoriais das diversas formulações. Finalmente, a fase III, consistiu na avaliação da aceitabilidade dos consumidores (com as bolachas obtidas na fase I e na fase II) assim como, no estudo dos hábitos de consumo da população.

Este capítulo encontra-se dividido em três subcapítulos – fase I, fase II e fase III – e estes em subcapítulos, nos quais se procede à análise dos diferentes resultados obtidos durante os ensaios realizados.

4.1 FASE I – SELEÇÃO DA PROTEÍNA A USAR PARA ENRIQUECIMENTO

4.1.1 ATIVIDADE DA ÁGUA (a_w)

Nos alimentos a água encontra-se presente de duas formas diferentes, quimicamente ligada a outras moléculas (imobilizada) ou na sua forma livre, separada de outras moléculas (disponível). É esta água disponível, que atua como solvente, permite reações químicas e o crescimento microbiano, que determina o valor da a_w . Este parâmetro pode variar entre 0, onde a água livre é inexistente e 1, onde a água se encontra totalmente disponível (equivalente a água pura). Deste modo, considera-se a a_w como uma propriedade importante nas formulações e processos alimentares, pois a maior parte das reações bioquímicas e microbiológicas são controladas pela a_w do sistema, o que a converte num parâmetro útil para prever a estabilidade e o tempo de prateleira dos alimentos (Sahin *et al.*, 2006).

Os resultados obtidos para a a_w das formulações com proteína do soro do leite, proteína de arroz e proteína de ervilha, assim como da formulação controlo (sem proteína adicionada), encontram-se na Figura 5.

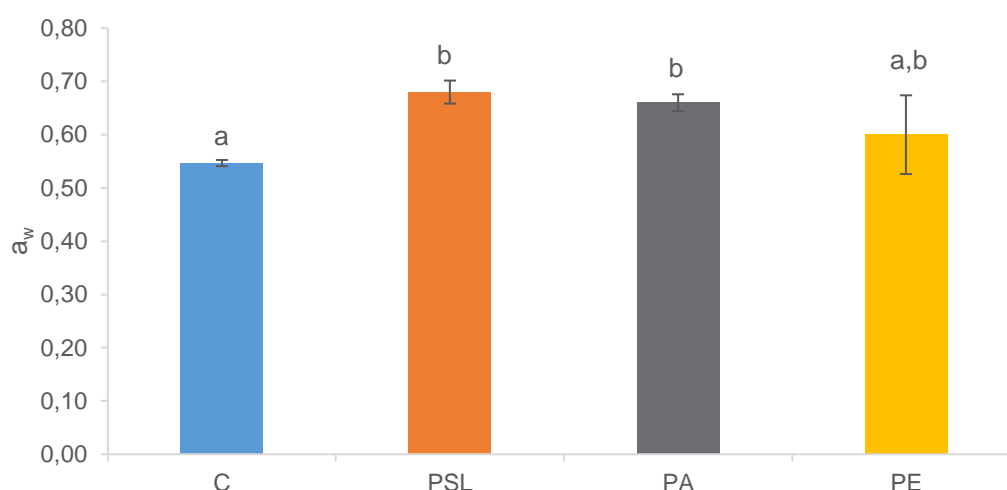


Figura 5 – Variação da atividade da água para a bolacha controlo (C), com adição de proteína de soro do leite (PSL), de arroz (PA) e de ervilha (PE).

Valores médios \pm desvio padrão para $n=3$. Valores com letras diferentes são estatisticamente diferentes pelo teste de Tukey ($p<0,05$).

Verifica-se que, genericamente, o valor da a_w é maior nas formulações com adição de proteína do que na formulação controlo, variando de 0,55 até 0,68 ($p<0,05$). Um valor mais elevado de a_w significa que há mais água disponível no sistema. Os valores obtidos são superiores aos reportados por Figura *et al.* (2007), nomeadamente, entre 0,30 e 0,50 para bolachas e produtos cozidos, respetivamente.

4.1.2 TEOR DE HUMIDADE

As bolachas são alimentos com teores de humidade baixos. A maior parte da humidade está numa camada fina de material perto do centro, enquanto a superfície e a periferia externa da bolacha estão praticamente secas. O teor de humidade da massa, compreende tanto a água adicionada à massa, durante a etapa de mistura, e a água que existe naturalmente nos ingredientes adicionados. Segundo Mamat *et al.* (2010), o processamento térmico reduz o teor de humidade final para 1 a 5% no produto final. De acordo com Lai *et al.* (2007), o nível de água usado na produção da massa das bolachas, afeta a retenção de humidade e a qualidade do produto final.

O efeito da adição da proteína no teor de humidade das bolachas é apresentado na Figura 6.

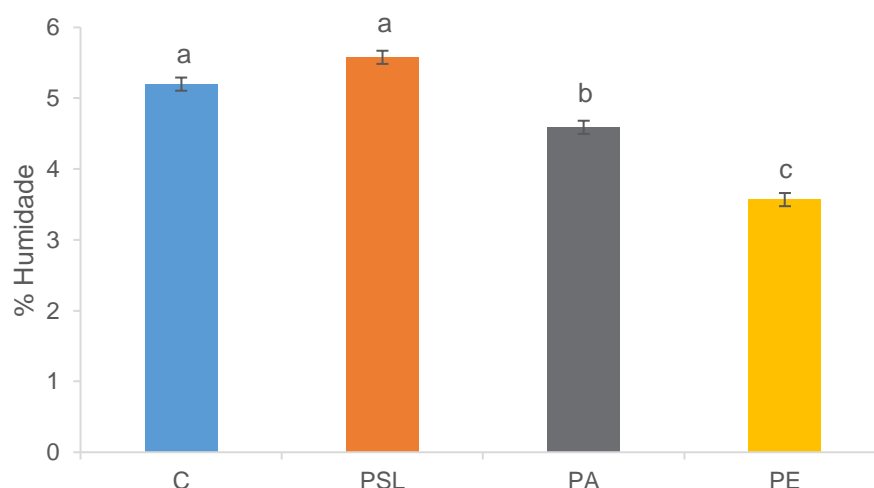


Figura 6 – Variação do teor de humidade para a bolacha controlo (C), com adição de proteína de soro do leite (PSL), de arroz (PA) e de ervilha (PE).

Valores médios \pm desvio padrão para $n=3$. Valores com letras diferentes são estatisticamente diferentes pelo teste de Tukey ($p<0,05$).

Através desta figura, verifica-se que, as formulações PA e PE apresentam teor de humidade inferior às formulações C e PSL ($p<0,05$). Pelo contrário, as formulações C e PSL não apresentam diferenças estatisticamente significativas entre si ($p>0,05$). Marques *et al.* (2016), no trabalho realizado com bolachas enriquecidas, verificaram que quanto maior a concentração de proteína do soro do leite adicionada, maior era o teor de humidade.

Nas formulações em que se adicionou proteína (PSL, PA e PE), verificou-se a necessidade de adicionar mais água, pois a hidratação da massa não era suficiente. Isto acontece porque a proteína absorve duas vezes o seu peso em água (Manley, 2000a). No entanto, mesmo após a adição da totalidade da água (Tabela V), a massa que se obteve, embora aparentemente ligada, continuava com pouca consistência e quebradiça. Maache-Rezzoug *et al.* (1998) verificaram o mesmo comportamento na massa de bolacha. Referiram também que tanto a qualidade como a quantidade de proteína influenciaram a absorção de água em bolachas. Este facto pode justificar os diferentes teores de humidade obtidos para as formulações com proteína, ainda que a quantidade de proteína adicionada tenha sido a mesma.

Gallagher *et al.* (2005b) que estudaram o efeito da adição de proteínas lácteas na qualidade final de bolachas, referem que para se obter bolachas com valores de a_w e de humidade iguais ao controlo, a formulação teria que ser ajustada devido à tendência das proteínas lácteas para absorverem água de forma diferente da farinha de trigo.

4.1.3 TEOR EM CINZAS

Na Figura 7 pode observar-se o teor em cinzas obtido para cada uma das quatro formulações realizadas nesta fase.

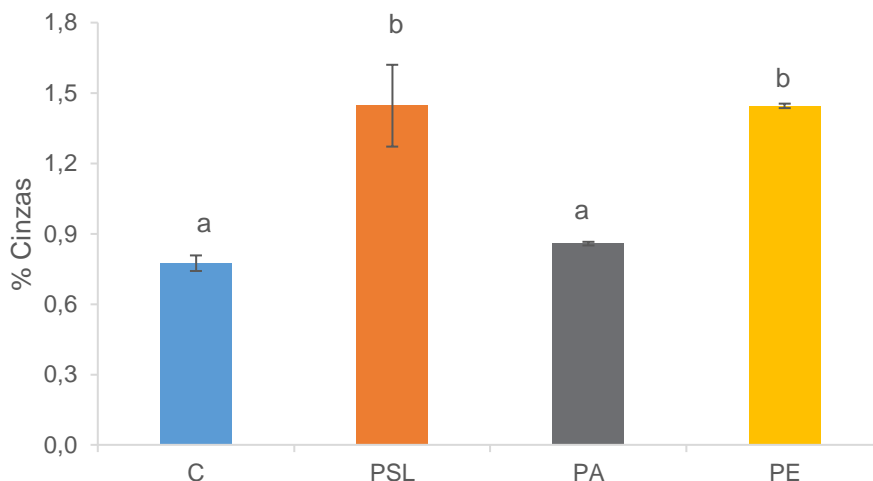


Figura 7 – Variação do teor em cinzas para a bolacha controlo (C), com adição de proteína de soro do leite (PSL), de arroz (PA) e de ervilha (PE).

Valores médios ± desvio padrão para n=3. Valores com letras diferentes são estatisticamente diferentes pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Verifica-se que a incorporação de proteína alterou o conteúdo final de cinzas nas formulações PSL e PE, quando comparado com a formulação controlo ($p < 0,05$), significando um aumento da qualidade nutricional das bolachas. O teor em cinzas variou de 0,77 até 1,45. Pelo contrário, a formulação PA não apresenta diferenças estatisticamente significativas relativamente à formulação controlo. Este resultado poderá indicar que o conteúdo de cinzas desta proteína é praticamente 0%, tal como indicado na ficha técnica do produto (Tabela IV e Anexo I). Através da análise do conteúdo em cinzas de cada uma das proteínas é possível comprovar que a proteína de arroz é a que tem menor conteúdo em cinzas, enquanto que a proteína de soro do leite e a proteína de ervilha podem ter conteúdos até 3 e 6%, respetivamente (Tabela IV).

4.1.4 TEOR DE PROTEÍNA

O teor de proteína por 100 g de alimento para cada uma das formulações é apresentado na Figura 8.

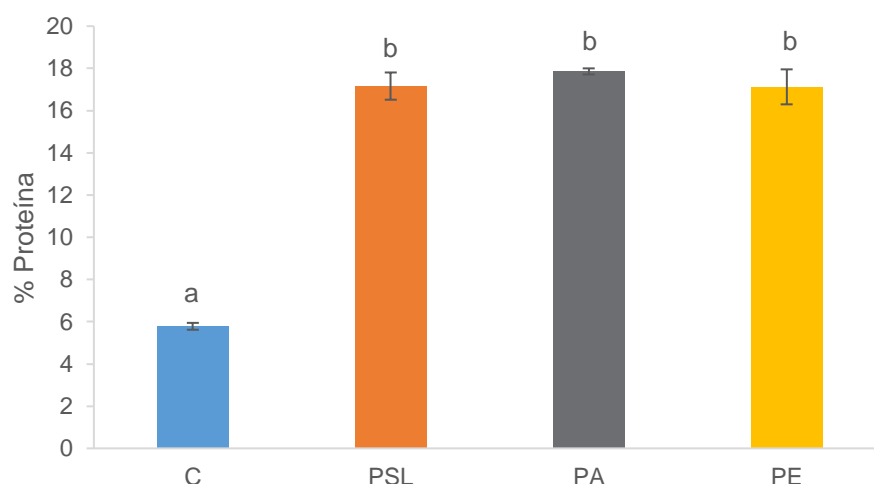


Figura 8 – Variação do teor de proteína para a bolacha controle (C), com adição de proteína de soro do leite (PSL), de arroz (PA) e de ervilha (PE). Valores médios \pm desvio padrão para $n=3$. Valores com letras diferentes são estatisticamente diferentes pelo teste de Tukey ($p<0,05$).

Verifica-se que os resultados do teor de proteína das formulações PSL, PA e PE não apresentaram diferenças significativas entre si, $\approx 17\%$ ($p>0,05$), o que seria de esperar uma vez que se adicionaram os preparados de proteína de forma a obter a mesma concentração final de proteína. A quantidade de proteína da formulação controle foi 5,78%, sendo que a proteína presente é fornecida pela farinha de trigo. A adição de proteína aumentou cerca de 2,9 vezes a sua concentração no produto, quando comparada com a formulação controle, independentemente do tipo de proteína.

A quantidade final de proteína bruta das formulações permitiu elaborar um produto diferenciado e com possibilidade de alegação nutricional, nomeadamente “teor de proteína” (Regulamento (CE) Nº 1924/2006).

Souza *et al.* (1994) concluíram que a quantidade total de proteína é mais importante para a qualidade da bolacha do que a composição dessa mesma proteína. Pelo que, existe a necessidade de analisar quais as implicações desta adição nas características organoléticas do produto.

4.1.5 COR DA SUPERFÍCIE DA BOLACHA (CIE $L^* a^* b^*$)

A cor das bolachas é das primeiras características a ser observada pelo consumidor, influenciando a aceitabilidade do produto. Pode ser modificada devido aos ingredientes utilizados na formulação, assim como o tempo e a temperatura utilizados na cozedura causando reações de *Maillard* e caramelização (Bertolin *et al.*, 2013). A reação de *Maillard* é uma reação química que ocorre entre açúcares redutores e aminoácidos das proteínas

e que provoca uma cor acastanhada na superfície dos produtos de panificação (Manley, 2000b). Como o desenvolvimento da cor ocorre durante a última fase da cozedura, a cor pode ser um parâmetro usado para determinar a conclusão do processo de cozedura (Mamat *et al.*, 2010).

Os parâmetros L^* e L^*/b^* para a superfície das bolachas podem ser observados na Figura 9.

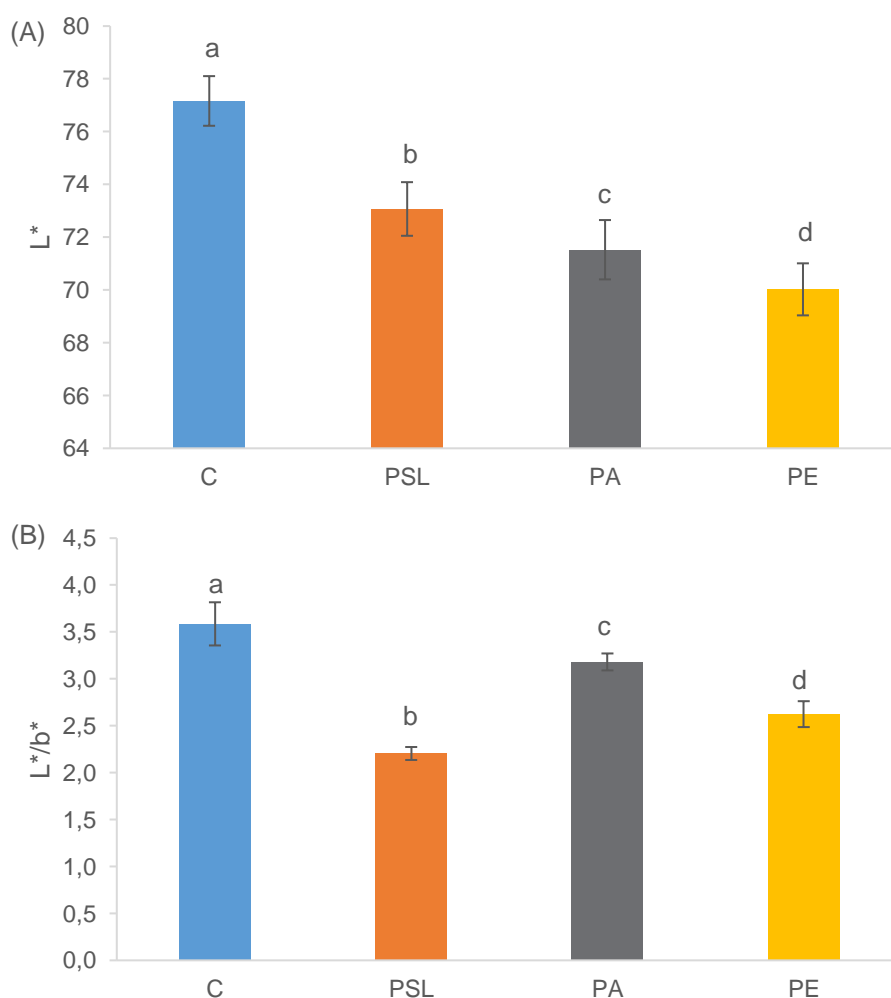


Figura 9 – Variação dos valores de L^* (A) e de L^*/b^* (B) para a bolacha controlo (C), com adição de proteína de soro do leite (PSL), de arroz (PA) e de ervilha (PE).

Valores médios \pm desvio padrão para $n=10$. Valores com letras diferentes são estatisticamente diferentes pelo teste de Tukey ($p<0,05$).

Através da Figura 9 (A), verifica-se que os valores de L^* de todas as formulações são inferiores à formulação controlo e apresentam diferenças significativas entre eles ($p<0,05$). Este comportamento significa que a adição de proteína provocou a diminuição da luminosidade das bolachas, podendo dizer-se que o conteúdo em proteína tem uma correlação negativa com o valor de L^* . Os mesmos resultados foram observados por

diversos autores (Bertolin *et al.*, 2013; Gallagher *et al.*, 2005b; Marques *et al.*, 2016). Isto deve-se às reações de *Maillard* que ocorrem entre proteínas e açúcares, contribuindo para uma cor mais escura do alimento.

É importante referir que o isolado de proteína de ervilha, ao contrário das restantes proteínas, tinha uma cor acastanhada (Tabela IV) conferindo naturalmente a mesma cor à bolacha, e tendo como consequência valores de L^* mais baixos.

O mesmo efeito foi verificado nos resultados de L^*/b^* (Figura 9 (B)). Observa-se que os valores são todos diferentes ($p < 0,05$) e que a adição de proteína diminui o valor do parâmetro L^*/b^* . A formulação PSL apresenta o menor valor, traduzindo-se numa cor mais amarelada como pode ser confirmado através da Figura 10. Nesta, é possível visualizar o aspeto das diferentes formulações estudadas, confirmando-se os resultados anteriormente descritos.



Figura 10 – Aparência da bolacha controlo (C), com adição de proteína de soro do leite (PSL), de arroz (PA) e de ervilha (PE).

4.1.6 DUREZA

A textura é um dos fatores que mais contribui para a qualidade do consumo de bolachas e pode ser interpretada em termos do estado dos seus ingredientes principais. A dureza, que é uma das características mais importantes da textura das bolachas, é medida como o pico da força para partir a bolacha (Laguna *et al.*, 2011; Mancebo *et al.*, 2015).

O processo de cozedura transforma a massa num sólido celular com uma textura final característica (Chevallier *et al.*, 2000). A dureza da bolacha é o resultado do comportamento da sacarose durante a cozedura. Esta é dissolvida na água da massa para formar uma solução altamente concentrada e quando a bolacha arrefece, depois de sair do forno, esta solução solidifica para se tornar num material duro, amorfo e vítreo, dando à bolacha uma textura crocante (Marques *et al.*, 2016).

Na Figura 11 podem observar-se os resultados obtidos para a dureza das bolachas com diferentes proteínas. Através desta figura é possível verificar que, para as formulações PA e PE, a dureza das bolachas foi significativamente afetada pela incorporação de proteína na formulação base ($p < 0,05$). O mesmo não foi verificado com a formulação PSL, a qual não apresentou diferenças significativas relativamente à formulação controlo ($p > 0,05$).

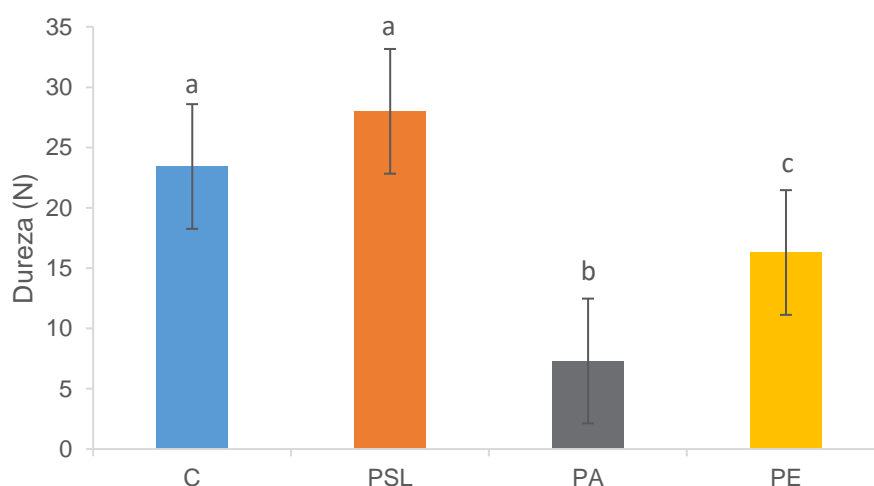


Figura 11 – Variação da dureza para a bolacha controlo (C), com adição de proteína de soro do leite (PSL), de arroz (PA) e de ervilha (PE).
Valores médios \pm desvio padrão para $n=10$. Valores com letras diferentes são estatisticamente diferentes pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

A formulação PSL foi a que apresentou maior dureza quando comparada às restantes formulações com proteína. Mancebo *et al.* (2016) verificaram que a incorporação de proteína diminuiu a dureza das bolachas. Gallagher *et al.* (2005b) obtiveram resultados idênticos e concluíram que este comportamento pode dever-se ao facto das proteínas do soro do leite serem solúveis não se ligando ativamente à água, a não ser que estejam altamente desnaturadas. Os resultados do teor de humidade (Figura 6) vão ao encontro da afirmação de Gallagher *et al.* (2005b), confirmando os resultados obtidos para a dureza. O'Brien *et al.* (2003) verificaram que a dureza se correlacionava positivamente com o teor de humidade ao longo do tempo.

Tal como se verifica na Tabela V, a quantidade de cada proteína adicionada em cada formulação não é a mesma. De facto, devido ao grau de pureza diferente, as proteínas foram adicionadas em quantidades diferentes para a concentração de proteína bruta no final ser a mesma. Deste modo, uma maior quantidade de proteína implica menor quantidade de farinha de trigo adicionada à bolacha, o que poderá influenciar a menor ou maior dureza verificada nas diferentes formulações.

4.1.7 MICROSCOPIA DE VARRIMENTO ELETRÓNICO (MVE)

A estrutura das bolachas de massa *short* é constituída por uma matriz de amido-proteína feita de proteínas do glúten com grãos de amido inchados cheios de células de ar de várias formas, tamanho e profundidade (Mieszkowska *et al.*, 2015). As propriedades das bolachas são determinadas maioritariamente pelo volume de espaços aéreos e glóbulos de gordura, assim como o nível de heterogeneidade (Blaszcak *et al.*, 2004). O açúcar da bolacha está numa solução concentrada que atrasa ou previne a gelatinização do amido durante o processamento das bolachas (Laguna *et al.*, 2011). Baltsavias *et al.* (1999) mostraram que, independentemente da composição, a gelatinização do amido é devida ao conteúdo limitado em água juntamente com uma temperatura de cozedura baixa, dando uma textura frágil. Laguna *et al.* (2011) refere que as proteínas não se agregam e hidratam o suficiente para formar uma rede de glúten.

Na Figura 12 podem observar-se imagens da estrutura interna das bolachas que descrevem o tamanho e a distribuição das células de ar (poros). As bolachas analisadas são caracterizadas por uma morfologia heterogénea, típica das bolachas e resultante da sua formulação. Observando as imagens, é possível verificar que as formulações controlo (A) e PSL (B) possuem alvéolos maiores quando comparadas com as formulações PA (C) e PE (D). Esta estrutura relativamente semelhante pode estar relacionada com a capacidade dos ingredientes lácteos de formar uma rede semelhante ao glúten (Nammakuna *et al.*, 2016). As formulações PA (C) e PE (D) apresentam um aspeto mais compacto. Maache-Rezzoug *et al.* (1998) verificaram que o aumento do conteúdo em proteína produziu bolachas mais finas e compactas em textura.

O corte lateral das amostras não é totalmente liso, pelo que algumas partes da matriz ficaram mais salientes. Este facto pode observar-se na imagem da formulação PE (D) em que é possível verificar algumas partes mais claras na matriz (efeito de carga) provocadas pela acumulação de eletrões nessa zona.

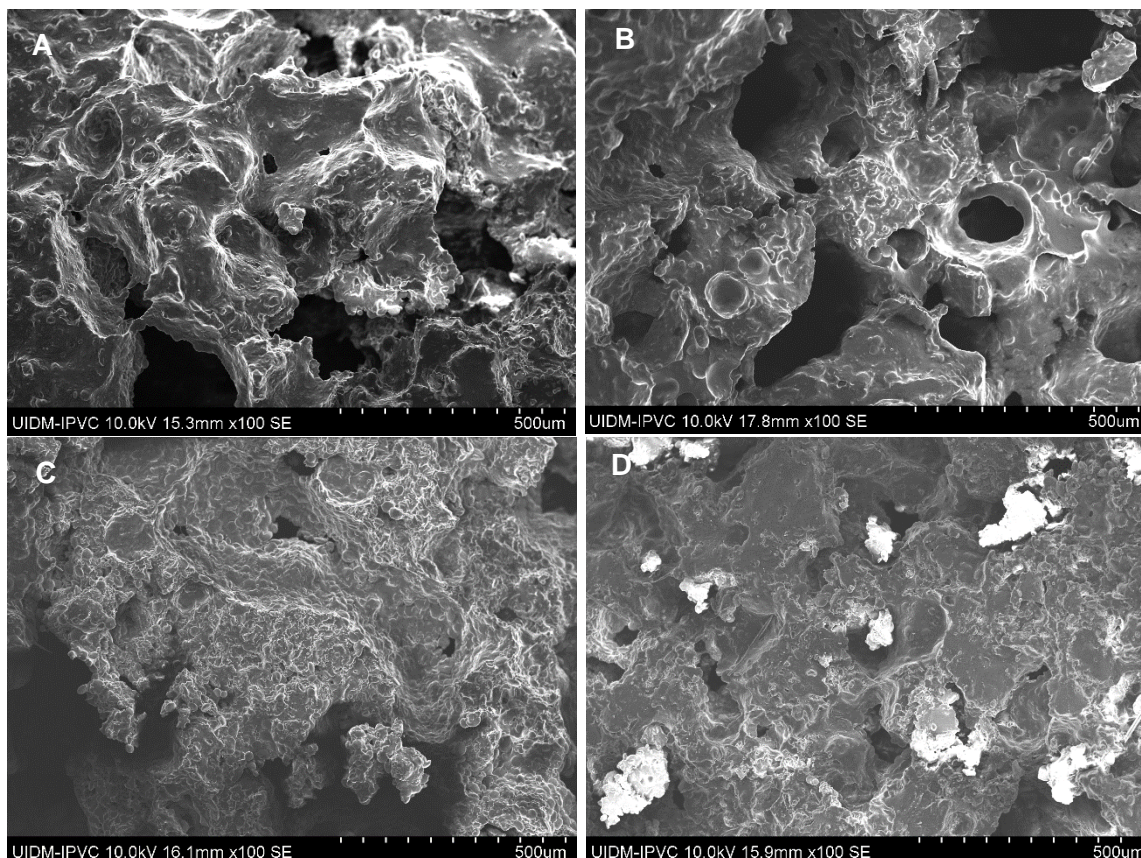


Figura 12 – Imagens obtidas da MVE da microestrutura interna (corte lateral) para a bolacha controlo (A), com adição de proteína de soro do leite (B), de arroz (C) e de ervilha (D). Ampliação de 100x.

4.1.8 ANÁLISE SENSORIAL COM PAINEL DE PROVADORES

A ADQ realizada nesta fase de seleção de proteína a usar no enriquecimento das bolachas permitiu traçar um perfil sensorial para as diferentes formulações (Figura 13).

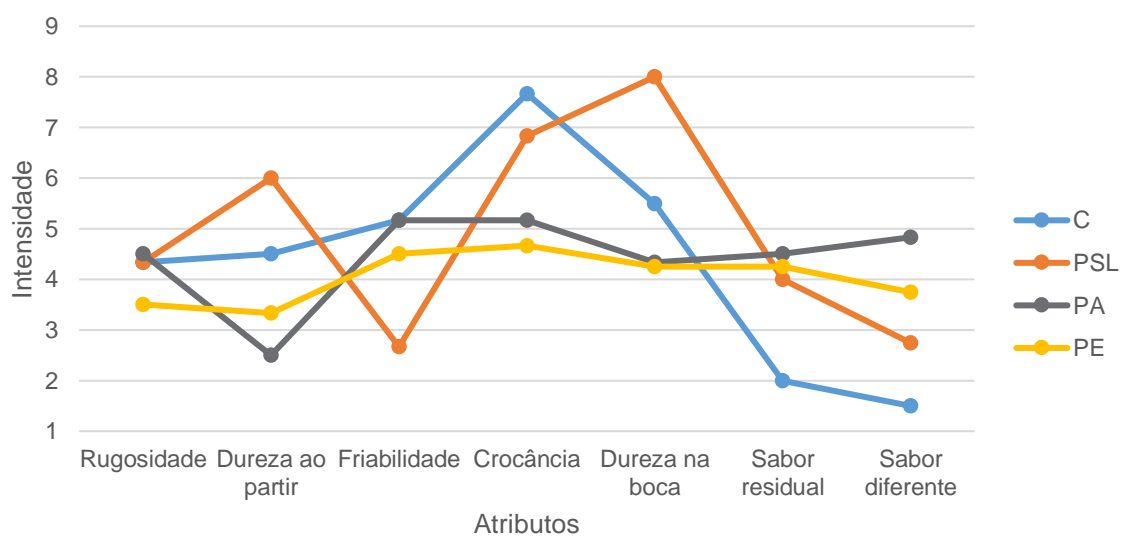


Figura 13 – Resultados da ADQ realizada pelo painel semi-treinado para a bolacha controlo (C), com adição de proteína de soro do leite (PSL), de arroz (PA) e de ervilha (PE).

Através da Figura 13, é possível verificar que no atributo “crocância”, a formulação controlo (C) foi a que obteve o valor mais elevado na ADQ, seguindo-se da formulação PSL. A formulação PSL foi classificada com intensidades mais elevadas nos atributos sensoriais “dureza ao partir” e “dureza na boca”. Estes resultados estão de acordo com os resultados obtidos na dureza analisada instrumentalmente (Figura 11). A formulação PA e a formulação controlo foram consideradas as mais friáveis (“desfaz muito”, como comentam alguns provadores). No atributo “sabor residual”, a formulação PA obteve o valor mais elevado, contudo, as formulações PE e PSL encontram-se muito próximas. A formulação PA é considerada pelos provadores, como tendo um sabor diferente mais acentuado. A formulação PE foi avaliada com intensidade mais baixa nos atributos “rugosidade”, “crocância” e “dureza na boca”. De uma forma geral, é possível verificar que a formulação PSL foi classificada com intensidades próximas à formulação controlo.

Foi realizada uma análise de variáveis canónicas (AVC), apresentada na Figura 14, com o objetivo de avaliar diferenças entre grupos por comparação com as diferenças observadas dentro dos grupos (Alves, 2006). Cada amostra é considerada como um grupo, com os resultados dos provadores projetados como réplicas. Foi construída uma matriz com 24 linhas (4 amostras x 6 provadores) e 7 colunas (7 atributos descritos no subcapítulo 3.5.10). Uma dispersão baixa dentro do mesmo grupo (amostra), significa que todos os provadores estão de acordo, enquanto uma dispersão elevada significa que as diferenças entre provadores são superiores às dos próprios grupos. Verificando-se esta situação, pode dizer-se que não há diferenças significativas entre as amostras em estudo.

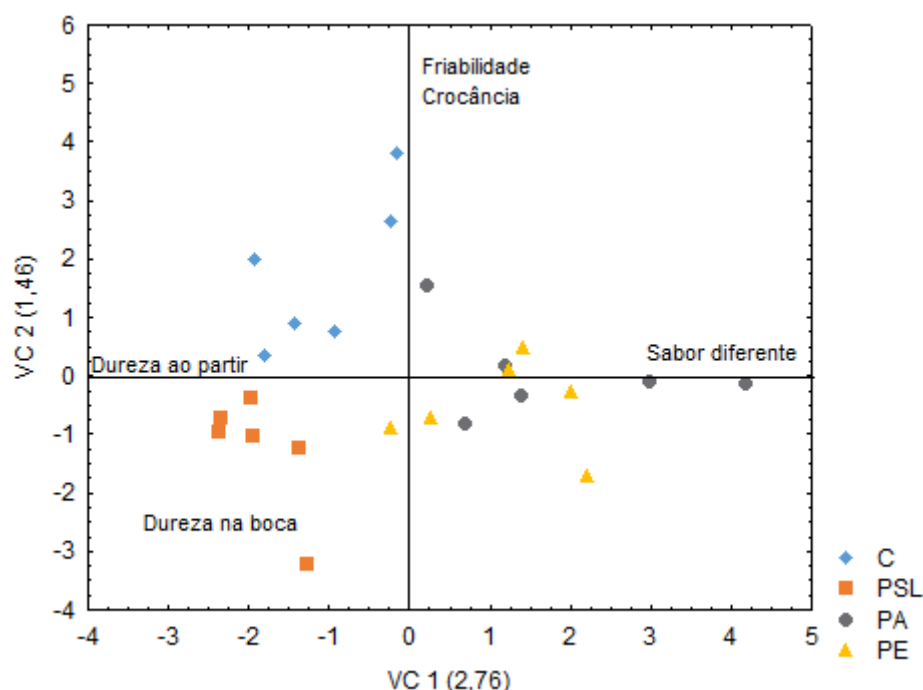


Figura 14 – Análise de variáveis canônicas à avaliação do painel de provadores para a bolacha controle (C), com adição de proteína de soro do leite (PSL), de arroz (PA) e de ervilha (PE).

Na verdade, a semelhança entre amostras motivou alguma confusão na análise dos produtos revelada na dispersão dos resultados (Figura 14). No entanto, é possível ver que o painel, distinguiu as amostras sobretudo no que respeita aos atributos dureza na boca e dureza ao partir. As amostras controle e PSL afastam-se das restantes, projetadas no lado esquerdo do eixo da VC 1, e as de menor dureza, no lado direito (PA e PE). Relativamente à friabilidade e crocância, pode dizer-se que o painel considerou as bolachas controle (sem adição de proteína), as mais crocantes e friáveis. Na VC 2, observa-se que a amostra PSL (quadrante inferior esquerdo) é aquela que mais consistentemente se afasta da amostra controle e das restantes formulações relativamente aos parâmetros organoléticos considerados. No entanto, como os provadores apresentam uma grande dispersão, este atributo não é tão relevante na discriminação das amostras.

4.1.9 ACEITABILIDADE COM CONSUMIDORES

Por forma a decidir qual a proteína a usar para enriquecimento na fase II, realizou-se um teste de aceitabilidade com a comunidade académica do IPVC onde foram inquiridos 38 indivíduos. Após preenchimento de um questionário para caracterização sociodemográfica e de hábitos de consumo, os consumidores indicaram a sua aceitabilidade para cada amostra (PSL, PA e PE).

A amostra era constituída por 38 indivíduos, conforme descrito na Tabela VIII.

Tabela VIII – Caraterísticas sociodemográficas e hábitos de consumo dos inquiridos (n=38).

Caraterísticas	Categoria	n	Frequência
Sexo	Feminino	26	68,4%
	Masculino	12	31,6%
Idade	Menos de 18	1	2,6%
	18-25	31	81,6%
	26-35	1	2,6%
	36-45	3	7,9%
	56-65	2	5,3%
Distrito	Aveiro	1	2,6%
	Braga	14	36,8%
	Porto	7	18,4%
	Viana do Castelo	16	42,1%
Situação Profissional	Empregado a tempo integral	6	15,8%
	Estudante	32	84,2%
Consumidor de bolachas	Sim	37	97,4%
	Não	1	2,6%
Frequência de consumo	Mais do que uma vez por semana	33	89,2%
	Uma vez por semana	4	10,8%
Tipo de bolachas que costuma consumir	Bolachas de água e sal	19	50,0%
	Bolachas integrais	18	47,4%
	Bolachas de cereais	19	50,0%
	Bolachas enriquecidas	3	7,9%
	Bolachas recheadas	18	47,4%
	<i>Cookies</i>	12	31,6%
	Outras	0	0,0%

Mais de metade dos participantes (68,4%) são do sexo feminino e a faixa etária mais representativa é dos 18 aos 25 anos, representando 81,6% da amostra, sendo na sua maioria (84,2%) estudantes. Os distritos mais representativos são Viana do Castelo e Braga, representando 42,1 e 36,8% da amostra, respetivamente. A maior parte dos consumidores inquiridos (97,4%) consome bolachas, sendo que destes, 89,2% consomem mais do que uma vez por semana e 10,8% apenas consomem uma vez por semana. Os tipos de bolachas mais consumidos são: bolachas de água e sal, integrais, de cereais e recheadas.

No que diz respeito à aceitabilidade, os resultados apresentados na Figura 15 mostram a opinião dos indivíduos relativamente às amostras PSL, PA e PE.

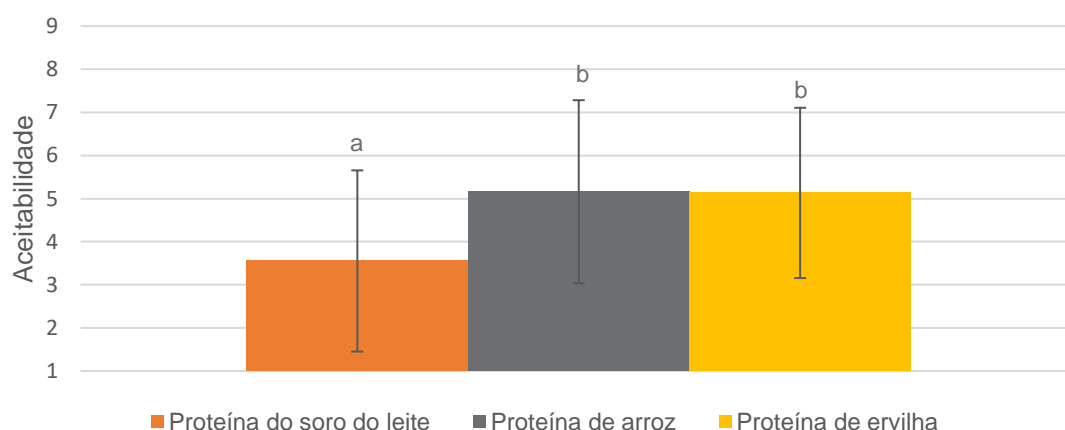


Figura 15 – Aceitabilidade das formulações com adição de proteína de soro do leite (PSL), de arroz (PA) e de ervilha (PE).

Valores médios \pm desvio padrão para $n=38$. Valores com letras diferentes são estatisticamente diferentes pelo teste de Tukey ($p<0,05$).

Os resultados (Figura 15) mostram que a amostra de proteína de soro do leite foi a que obteve uma menor aceitabilidade, estando situada entre “desagradável” e “ligeiramente desagradável”. As bolachas com proteína de arroz e proteína de ervilha não apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre si ($p>0,05$) e foram classificadas como “indiferente”. Na verdade, como era de esperar, as bolachas dadas a provar, não angariaram uma opinião muito favorável (pontuação acima do aceitável), pois as amostras apresentavam um aroma muito intenso a proteína adicionada, que para a maioria dos inquiridos, com idades inferiores a 25 anos, é um fator muito importante na aceitabilidade dos alimentos.

Tendo em consideração os resultados, optou-se por selecionar a proteína de ervilha para a formulação a seguir no estudo, pois considerou-se que possui um conjunto de características mais adequado, segundo a avaliação do painel de provadores, nomeadamente um sabor diferente menos intenso relativamente à formulação com proteína de arroz (Figura 13).

4.2 FASE II – OTIMIZAÇÃO DAS FORMULAÇÕES

4.2.1 ATIVIDADE DA ÁGUA

Os resultados obtidos para a a_w das formulações com diferentes combinações de teores de proteína, cálcio e vitamina D, assim como da formulação controlo (sem adição de proteína, cálcio e vitamina D), encontram-se na Figura 16.

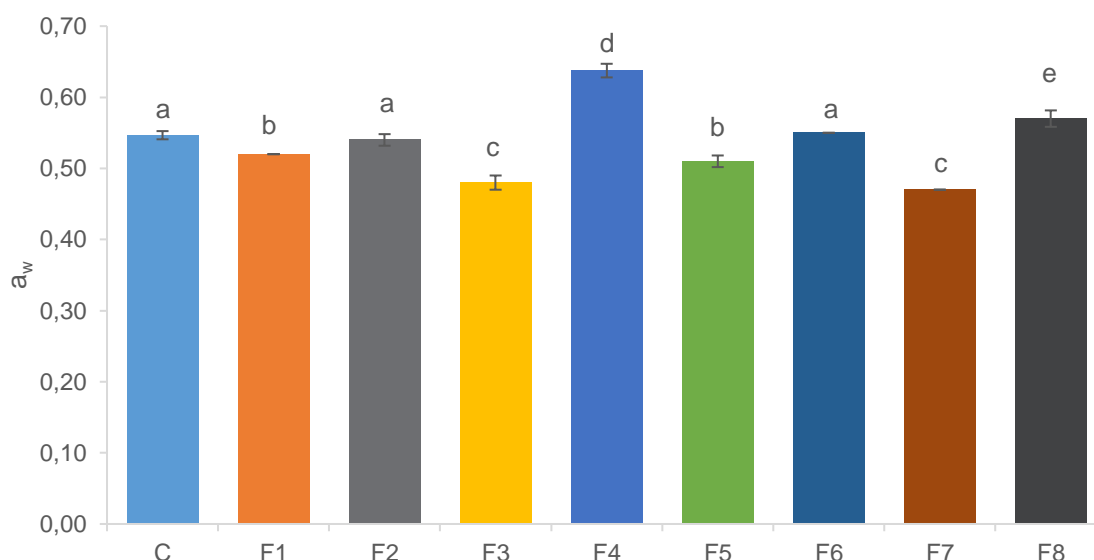


Figura 16 – Variação da atividade da água para as bolachas enriquecidas com proteína, cálcio e vitamina D (F1 a F8), assim como da formulação controle (C). Valores médios \pm desvio padrão para $n=3$. Valores com letras diferentes são estatisticamente diferentes pelo teste de Tukey ($p<0,05$).

De uma forma geral, a a_w foi menor nas formulações com fonte de proteína (F1, F3, F5 e F7), e maior nas formulações com “alto teor em proteína” (F2, F4, F6 e F8). Contudo, a formulação controle, que tem cerca de 6% de proteína, não apresentou diferenças estatisticamente significativas da F2 e da F6 que têm cerca de 20% de proteína ($p>0,05$). Valores de a_w elevados devem-se a menos água ligada no sistema.

Gallagher *et al.* (2005b) que incorporaram proteínas em bolachas com diferentes concentrações (5, 10 e 15%) não obtiveram uma variação linear dos valores de a_w , tendo obtido um valor mais elevado na formulação com 10% de proteína. Também O'Brien *et al.* (2003) verificaram resultados inconclusivos, uma vez que três das formulações com 5% de proteína obtiveram uma a_w de 0,35, contudo a quarta formulação com 5% de proteína obteve uma a_w de 0,15. As formulações com 20% de proteína obtiveram uma a_w de 0,20.

Os valores obtidos para a a_w neste estudo são superiores aos valores teóricos, que se situam entre 0,30 e 0,50, segundo Figura *et al.* (2007), e também aos valores obtidos por Gallagher *et al.* (2005b) e O'Brien *et al.* (2003).

Neste parâmetro, verificou-se ainda que as formulações com o mesmo teor de proteína e cálcio, e com teor de vitamina D diferente, não apresentaram diferenças estatisticamente significativas ($p>0,05$).

4.2.2 TEOR DE HUMIDADE

O efeito da adição da proteína, cálcio e vitamina D no teor de humidade das bolachas é apresentado na Figura 17.

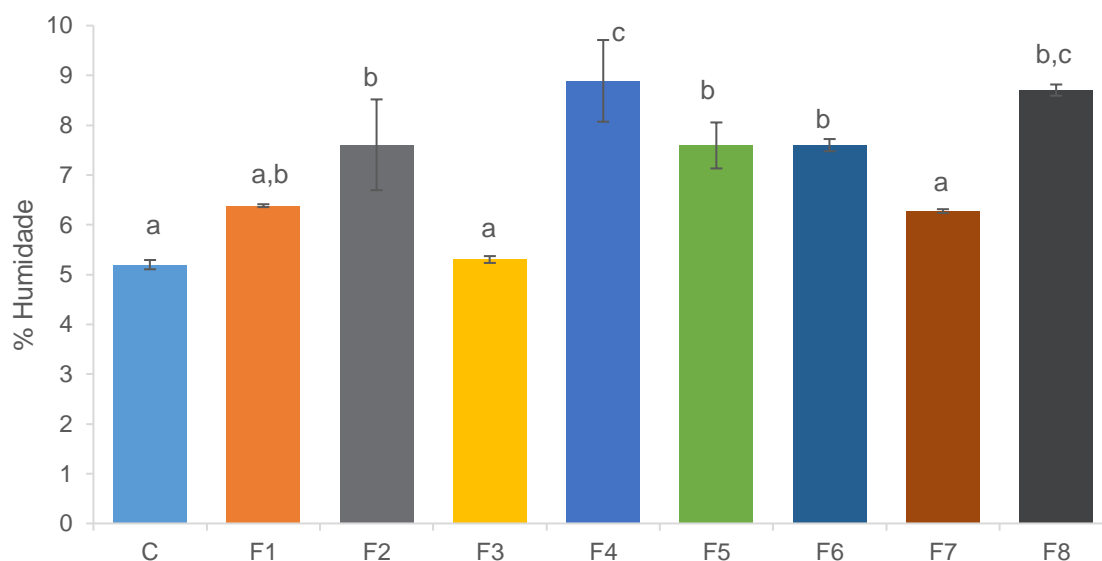


Figura 17 – Variação do teor de humidade para as bolachas enriquecidas com proteína, cálcio e vitamina D (F1 a F8), assim como da formulação controlo (C).

Valores médios \pm desvio padrão para $n=3$. Valores com letras diferentes são estatisticamente diferentes pelo teste de Tukey ($p<0,05$).

Na fase I verificou-se que a formulação com proteína de ervilha obteve um teor de humidade inferior ao da formulação controlo (Figura 6), o que não se verificou nesta fase. À semelhança da fase I, todas as formulações da fase II apresentaram um teor de humidade superior ao referido por Mieszkowska *et al.* (2015) (1 a 5%). À exceção das formulações F1, F3 e F7, que não apresentaram diferenças estatisticamente significativas quando comparadas com a formulação controlo ($p>0,05$), as restantes formulações obtiveram um teor de humidade superior. Isto ocorreu porque à medida que se aumentou a concentração de proteína, houve necessidade em adicionar mais água à formulação (Tabela VII) para obtenção de uma massa mais coesa e moldável. Resultados semelhantes foram referidos por Maache-Rezzoug *et al.* (1998) e Marques *et al.* (2016), num estudo com bolachas enriquecidas com proteína. As formulações F4 e F8 (“alto teor em proteína e de cálcio”) apresentam os valores de teor de humidade mais elevados, 1,7 vezes superior à formulação controlo. O aumento gradual no teor de humidade pode ser devido à adição de proteína nas bolachas, uma vez que a proteína exhibe natureza higroscópica (Amin *et al.*, 2016). De referir ainda que todas as formulações têm adição de cálcio e vitamina D, o que poderá contribuir para aumentar a retenção de água na bolacha.

4.2.3 TEOR EM CINZAS

Na Figura 18 encontram-se os valores obtidos na determinação do teor em cinzas das bolachas enriquecidas com proteína de ervilha, cálcio e vitamina D, assim como da formulação controle.

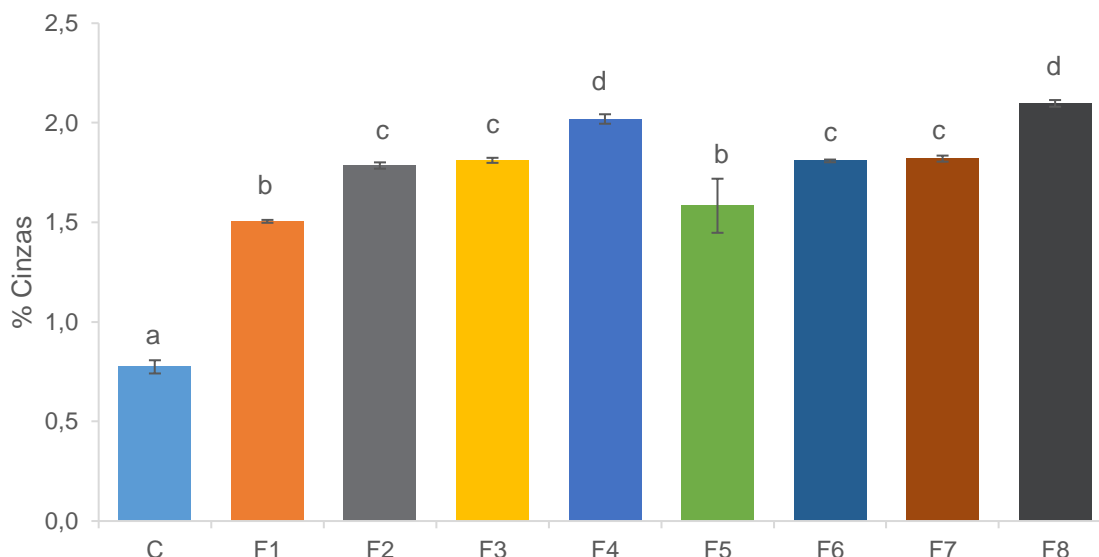


Figura 18 – Variação do teor em cinzas para as bolachas enriquecidas com proteína, cálcio e vitamina D (F1 a F8), assim como da formulação controle (C).

Valores médios \pm desvio padrão para $n=3$. Valores com letras diferentes são estatisticamente diferentes pelo teste de Tukey ($p<0,05$).

O teor em cinzas das amostras com diferentes concentrações de proteína de ervilha, cálcio e vitamina D variou de 1,5 a 2,1%, e foi mais elevado do que a formulação controle (0,8%). Deste modo é possível observar, que o teor em cinzas aumentou consideravelmente com a adição da proteína e do cálcio, sendo que a F4 e a F8 foram as formulações com maior teor em cinzas ($p<0,05$), 2,6 vezes superior à formulação controle. Estas últimas contêm maior quantidade (“alto teor”) de proteína e cálcio, diferindo apenas na quantidade de vitamina D. As formulações F2, F3, F6 e F7, que possuem “alto teor em proteína” ou “alto teor em cálcio”, não apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre elas ($p>0,05$) podendo indicar que as diferentes concentrações de proteína e cálcio acabaram por se complementar. As formulações F1 e F5 não apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre si ($p>0,05$) pois ambas apenas diferem no teor de vitamina D, sendo que a proteína e o cálcio foram adicionados como “fonte de” ($p>0,05$).

4.2.4 TEOR DE PROTEÍNA

Na Figura 19 encontram-se os valores obtidos na determinação do teor de proteína das bolachas enriquecidas com proteína de ervilha, cálcio e vitamina D, assim como da formulação controle.

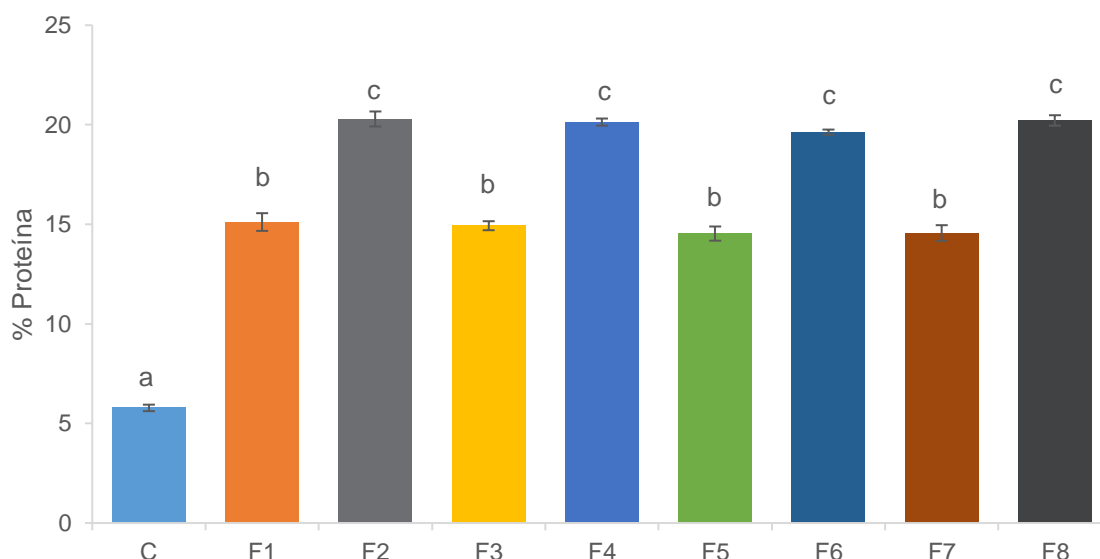


Figura 19 – Variação do teor de proteína para as bolachas enriquecidas com proteína, cálcio e vitamina D (F1 a F8), assim como da formulação controle (C).

Valores médios \pm desvio padrão para $n=3$. Valores com letras diferentes são estatisticamente diferentes pelo teste de Tukey ($p<0,05$).

Através da Figura 19 é possível verificar que as formulações em que se adicionou “alto teor em proteína” (F2, F4, F6 e F8) foram as que apresentaram um maior teor de proteína quando comparadas com as restantes ($p<0,05$), independentemente da presença de cálcio e de vitamina D. Constata-se ainda que estas formulações apresentam teor de proteína 3,4 vezes superior à formulação controle. Da mesma forma, as formulações com “fonte de proteína” (F1, F3, F5 e F7) apresentaram um teor de proteína 2,5 vezes superior à formulação controle, não apresentando diferenças estatisticamente significativas entre si ($p>0,05$). A quantidade de proteína apresentada na formulação controle deve-se à quantidade de proteína presente na farinha de trigo (5,78%).

O Regulamento (CE) Nº 1924/2006 refere que para se garantir o cumprimento das alegações, é necessário que a substância alvo da alegação se encontre presente no produto final em quantidades suficientes para produzir o efeito nutricional ou fisiológico alegado. A substância deverá também ser assimilável pelo organismo. Além disso, e sempre que adequado, uma quantidade significativa da substância que produz o efeito nutricional ou fisiológico alegado deve ser fornecida por uma quantidade do alimento

suscetível, razoavelmente, de ser consumida. Deste modo, com os resultados obtidos constata-se que se podem aplicar as alegações “fonte de” e “alto teor em”, indicadas no Regulamento nº 1924/2006 e a alegação de saúde indicada no Regulamento (UE) nº 432/2012, nomeadamente “as proteínas contribuem para o crescimento da massa muscular”.

A má nutrição em idosos é um fator importante para a sarcopenia, pois a maior parte dos seniores não ingere proteína suficiente segundo a DDR que é de 50 g para um adulto médio (8400 kJ/2000 kcal) segundo o Regulamento (UE) nº 1169/2011 (Bertolin *et al.*, 2013). Há estudos que sugerem que um aumento da ingestão de proteína e atividade física pode ser uma estratégia viável para abrandar a sarcopenia (Giacalone *et al.*, 2016). Segundo Mitchell *et al.* (2015), a ingestão de proteínas do leite estimula a síntese de proteína muscular a uma grande extensão depois de exercício de resistência quando comparada à ingestão de proteína de soja. Alguns autores afirmam que as proteínas de ervilha e de arroz, com perfil de aminoácidos semelhantes à proteína do soro do leite, têm a capacidade de estimular a síntese de proteína muscular (Babault *et al.*, 2015; Joy *et al.*, 2013).

4.2.5 TEOR DE CÁLCIO

Na Figura 20 encontram-se os valores obtidos na determinação do teor de cálcio das bolachas enriquecidas com proteína de ervilha, cálcio e vitamina D, assim como da formulação controlo.

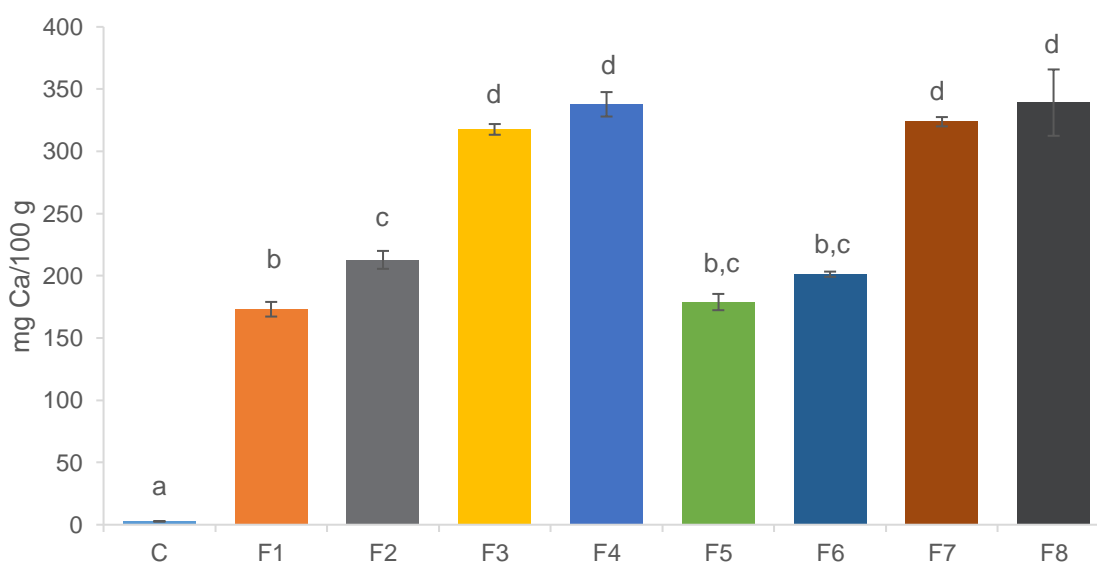


Figura 20 – Variação do teor de cálcio para as bolachas enriquecidas com proteína, cálcio e vitamina D (F1 a F8), assim como da formulação controlo (C).

Valores médios \pm desvio padrão para $n=3$. Valores com letras diferentes são estatisticamente diferentes pelo teste de Tukey ($p<0,05$).

De acordo com a Figura 20, verifica-se que as formulações F1, F2, F5 e F6, enriquecidas com “fonte de cálcio” apresentam valores semelhantes ($p>0,05$), variando entre 173,15 e 212,81 mg/100 g, com a exceção das formulações F1 e F2, as quais apresentam diferenças entre si ($p<0,05$). Da mesma forma, as formulações com “alto teor em cálcio”, F3, F4, F7 e F8, não apresentam diferenças significativas ($p>0,05$), e os respectivos valores variam entre 317,64 e 339,15 mg/100 g. A formulação controlo (sem adição de cálcio), apresentou 2,70 mg/100 g de cálcio, o que mostra que a adição de cálcio aumentou, no mínimo, cerca de 64 vezes a concentração deste mineral no alimento.

Através dos resultados comprova-se que a quantidade de cálcio, calculada tendo em conta o Regulamento (CE) nº 1924/2006 e a pureza do lactato de cálcio, adicionada à massa da bolacha não foi alterada pelo processo produtivo, nomeadamente o processo de cozedura.

A DDR de cálcio para adultos é de 800 mg/dia. Segundo o Regulamento (CE) nº 1924/2006 um alimento sólido pode ser considerado como “fonte de” e com “alto teor em cálcio”, se 100 g do produto pronto a consumir fornecer pelo menos 15% e 30% da DDR, respetivamente. Através da concentração de cálcio presente nas bolachas, é possível alegar “fonte de” e “alto teor em cálcio”. As alegações nutricionais permitem a utilização de alegações de saúde estabelecidas no Regulamento (UE) nº 432/2012, nomeadamente “o cálcio é necessário para a manutenção de ossos normais”.

4.2.6 TEOR DE VITAMINA D

Na Figura 21 encontram-se os valores obtidos na determinação do teor de vitamina D₃ das bolachas enriquecidas com proteína de ervilha, cálcio e vitamina D.

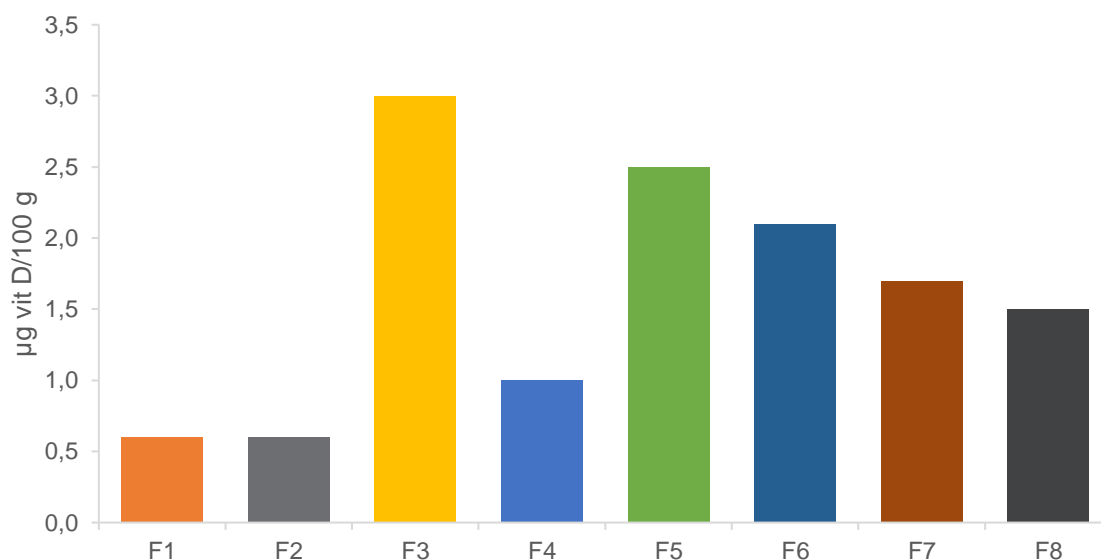


Figura 21 – Variação do teor de vitamina D para as bolachas enriquecidas com proteína, cálcio e vitamina D (F1 a F8).

De acordo com a Figura 21, verifica-se que as formulações F1, F2 e F4, enriquecidas com “fonte de vitamina D”, apresentam os valores mais baixos, variando entre 0,6 e 1,0 µg/100 g, sendo que a formulação F4 é a única em que é possível a referida alegação, pois a quantidade mínima necessária é de 0,75 µg/100 g. A formulação F3 apresenta a maior quantidade de vitamina D (3,0 µg/100 g), apesar de ter sido enriquecida da mesma forma que as anteriores. Neste caso, será possível alegar “alto teor em vitamina D”. O valor de vitamina D encontrado nesta formulação que não era expectável face aos valores das restantes formulações com a mesma quantidade adicionada, pode estar relacionado com o baixo teor de humidade encontrado (Figura 17). As formulações F5, F6, F7 e F8, enriquecidas com “alto teor em vitamina D”, apresentam valores mais elevados relativamente às formulações F1, F2 e F4, variando de 1,5 a 2,5 µg/100 g. Deste modo, verifica-se que é possível a alegação “alto teor em vitamina D”, pois a quantidade mínima necessária é de 1,5 µg/100 g. A formulação controlo não foi analisada pois não é expectável que possua vitamina D. À semelhança da proteína e do cálcio, as alegações nutricionais referidas para a vitamina D permitem a utilização de alegações de saúde estabelecidas no Regulamento (UE) nº 432/2012, nomeadamente “a vitamina D é necessária para a manutenção de ossos normais” e “a vitamina D contribui para a normal absorção do cálcio”.

Através dos resultados comprova-se que a quantidade de vitamina D, calculada tendo em conta o Regulamento (CE) nº 1924/2006 (Apêndice I), adicionada à massa da bolacha não foi alterada pelo processo produtivo, nomeadamente o processo de cozedura.

A vitamina D está presente num número limitado de alimentos, sendo que o consumo destes poderá ser importante em circunstâncias em que a exposição ao sol é reduzida, uma vez que esta é sintetizada através da ação do sol na pele. Os idosos são uma faixa etária que necessita destes alimentos, uma vez que têm tendência a passar menos tempo ao sol, criando-se uma deficiência em vitamina D (Gennari, 2001). Embora o aumento da ingestão de vitamina D através de alimentos naturalmente ricos e/ou suplementos possa melhorar o estado nutricional dos indivíduos que os consomem, o seu impacto limitado ao nível da população requer outras estratégias dietéticas, tais como a exploração da fortificação e biofortificação (Cashman, 2015). Deste modo, o enriquecimento de alimentos com vitamina D possibilita a expansão do espectro de alimentos em que esta está presente, podendo assim contribuir para o combate da osteoporose.

4.2.7 COR DA SUPERFÍCIE DAS BOLACHAS

Os parâmetros L^* e L^*/b^* para a superfície das bolachas podem ser observados na Figura 22. As alterações na cor influenciadas pela adição da proteína, cálcio e vitamina D, quando comparadas com a formulação controlo, foram estatisticamente significativas ($p < 0,05$). Este resultado leva a concluir que a cor das bolachas (exceto formulação controlo) foi condicionada pela adição de proteína, a qual já apresenta uma coloração creme escuro. À semelhança do que aconteceu nas bolachas da fase I, a adição de proteína levou a valores de L^* (luminosidade) mais baixos. A adição de 13 e 21% não causou diferenças entre as formulações no parâmetro luminosidade, nem no parâmetro L^*/b^* ($p > 0,05$). Outros autores concluíram também que a adição de proteína diminuiu a luminosidade (L^*) (Bertolin *et al.*, 2013; Gallagher *et al.*, 2005b; Marques *et al.*, 2016). Mancebo *et al.* (2016) verificou também que o aumento de proteína de ervilha em bolachas (à base de farinha de arroz) diminuiu o valor de L^* . Deste modo, como se aumentou a concentração de proteína no alimento, as reações de *Maillard* ocorreram em maior extensão, conferindo uma cor mais escura. Contudo, as formulações com maior quantidade de proteína (F2, F4, F6 e F8) não apresentaram diferenças estatisticamente significativas das restantes formulações. Indicando que parece existir um limite máximo para que a proteína tenha influência nos parâmetros L^* e L^*/b^* .

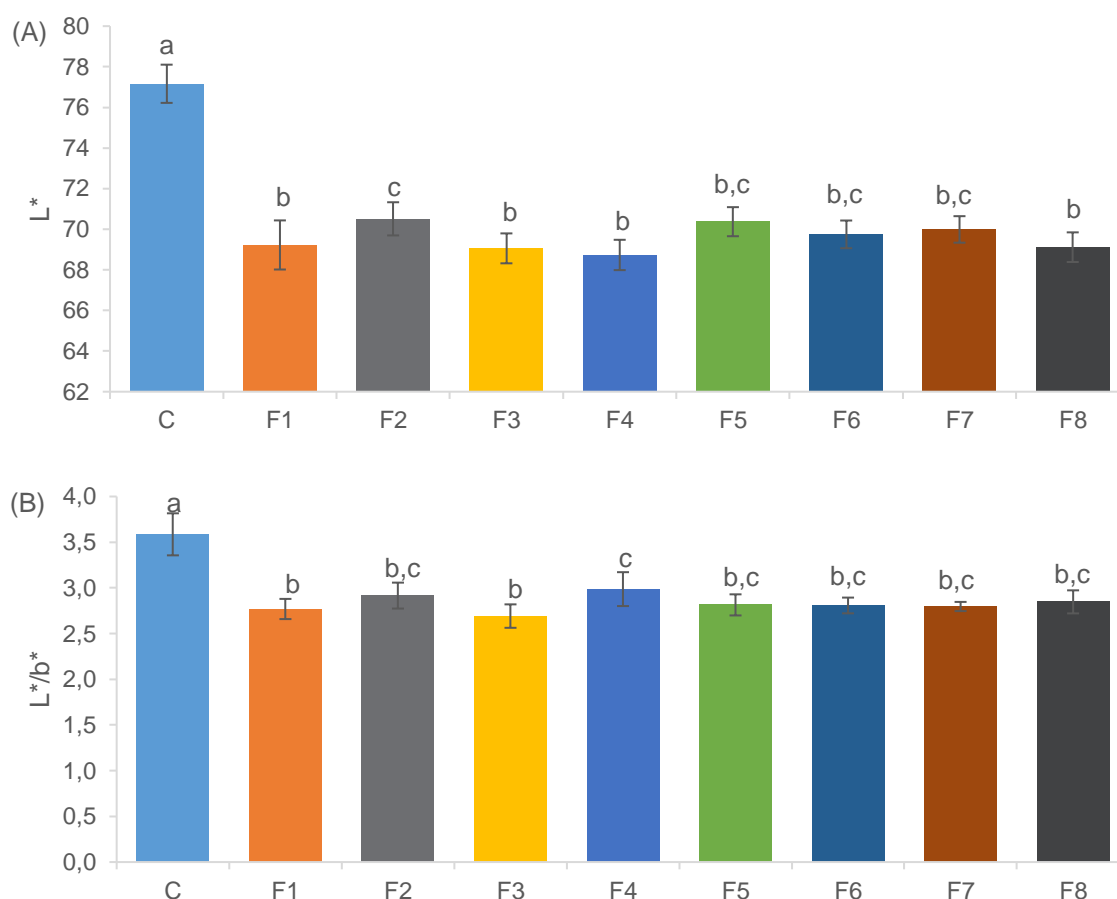


Figura 22 – Variação dos valores de L^* (A) e L^*/b^* (B) para as bolachas enriquecidas com proteína, cálcio e vitamina D (F1 a F8), assim como da formulação controle (C).

Valores médios \pm desvio padrão para $n=10$. Valores com letras diferentes são estatisticamente diferentes pelo teste de Tukey ($p<0,05$).

A adição de cálcio não mostrou ter influência no valor de L^* , pois nas formulações em que o teor de proteína e vitamina D eram iguais e apenas se variou o teor de cálcio, não houve diferenças estatisticamente significativas entre as amostras ($p>0,05$), exceto na F2 e F4 em que o valor de L^* diminuiu ($p<0,05$). Pelo contrário, Açar *et al.* (2012) observou o aumento do valor de L^* em bolachas enriquecidas com cloreto de cálcio, 0,1, 0,5 e 1%, e cozidas a 205 °C. Este autor refere que a presença dos cátions reduz a formação de acrilamida, substância responsável pelo escurecimento dos produtos.

Através da Figura 22-B, verifica-se que o valor de L^*/b^* diminuiu com a adição de proteína, cálcio e vitamina D ($p<0,05$). Entre as restantes formulações, com diferentes teores de proteína, cálcio e vitamina D não se verificaram diferenças estatisticamente significativas nos valores de L^*/b^* ($p>0,05$).

Na Figura 23 é possível confirmar os resultados obtidos anteriormente (L^*). Através das imagens desta figura, constata-se que as bolachas enriquecidas são mais acastanhadas/escuras (F1 a F8) quando comparadas com a bolacha controle (C). Pode-se dizer que as ligeiras diferenças que se observam entre as diversas formulações, não sendo significativas, devem-se às diferenças de luminosidade aquando da obtenção da imagem.

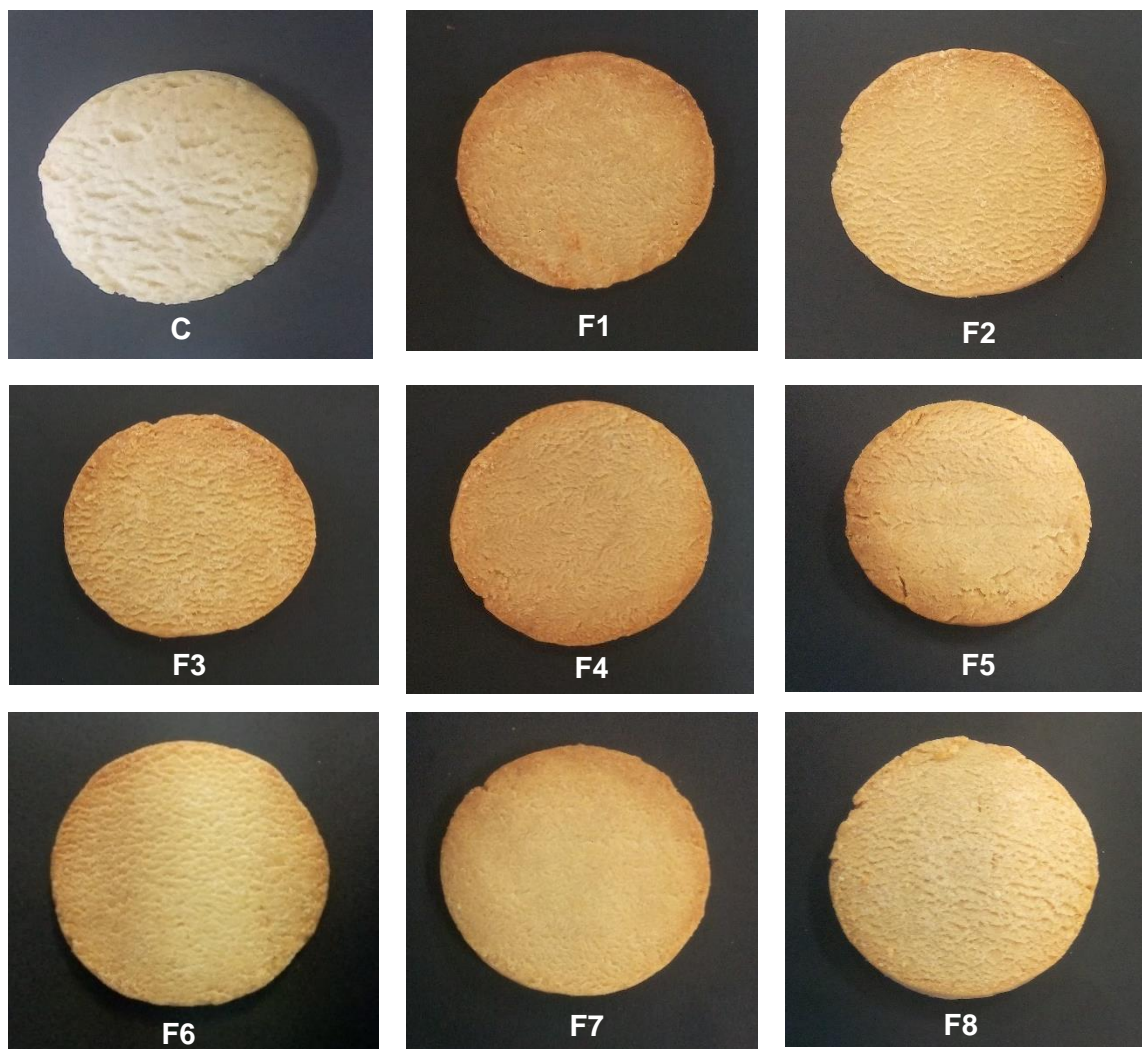


Figura 23 – Aparência das bolachas as bolachas enriquecidas com proteína de ervilha, cálcio e vitamina D (F1 a F8), assim como da formulação controle (C).

4.2.8 DUREZA

Na Figura 24 podem observar-se os resultados obtidos para a dureza das bolachas enriquecidas com diferentes concentrações de proteína de ervilha, cálcio e vitamina D.

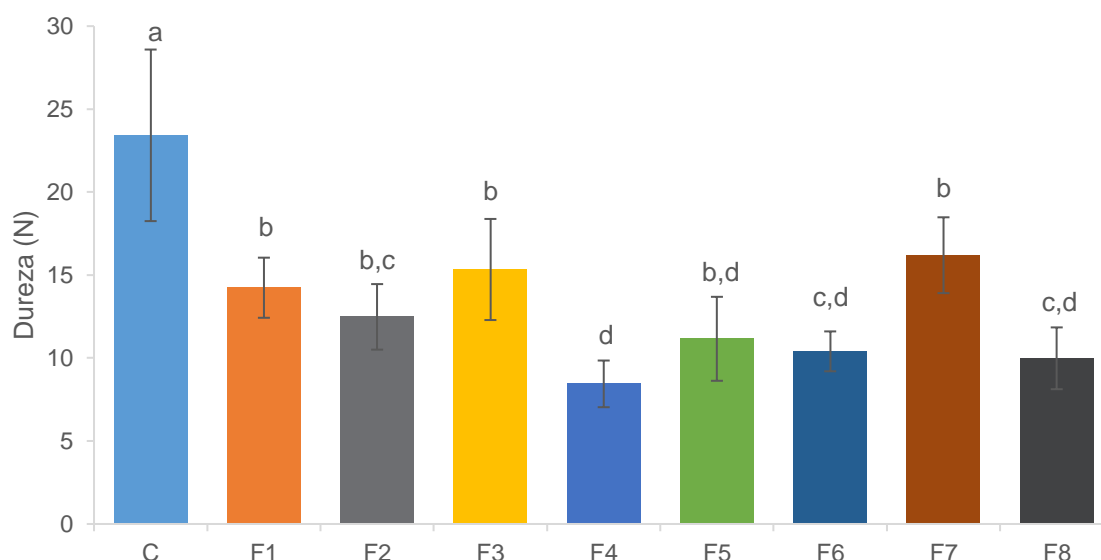


Figura 24 – Variação dos valores da dureza para as bolachas enriquecidas com proteína, cálcio e vitamina D (F1 a F8), assim como da formulação controle (C).

Valores médios \pm desvio padrão para $n=10$. Valores com letras diferentes são estatisticamente diferentes pelo teste de Tukey ($p<0,05$).

É possível verificar que a incorporação de proteína de ervilha provocou a diminuição da dureza da bolacha, independentemente da formulação. O mesmo comportamento foi observado por Mancebo *et al.* (2016), em bolachas enriquecidas com proteína de ervilha.

Apesar de, em alguns casos, não haver diferenças significativas verifica-se que as formulações com teor de proteína, F1, F3, F5 e F7, apresentaram valores de dureza superiores às formulações com alto teor de proteína, F2, F4, F6 e F8. De referir que as formulações com “alto teor em proteína” têm menor quantidade de farinha, o que contribui também para os menos valores de durezas obtidos (Tabela VII). Concluiu-se que quanto maior o “teor em proteína”, menor a dureza. Se se comparar a Figura 17 com a Figura 24, verifica-se que existe uma correlação inversa entre o teor de humidade e a dureza da bolacha, isto é, quanto maior o teor de humidade, menor a dureza da bolacha.

4.2.9 MICROSCOPIA DE VARRIMENTO ELETRÓNICO (MVE)

As mudanças na estrutura da bolacha, durante a formação da massa e a etapa de cozedura, estão relacionadas com os dois componentes maioritários, o amido e a proteína. O amido tem um papel importante na estruturação da massa e bolachas pela sua interação com a matriz de proteína durante a cozedura (Kumar *et al.*, 2015).

Na Figura 25 podem observar-se imagens (ampliadas 500x) da estrutura interna das bolachas que mostram os vários componentes microestruturais, como os grânulos de

amido, matriz proteica, corpos proteicos e canais de ar (poros). As bolachas analisadas são caracterizadas por uma morfologia heterogênea, típica deste produto e resultante da sua formulação. Observando as imagens, é possível verificar que, com a adição de proteína nas bolachas, estas ficam mais compactas impedindo a formação dos canais de ar (F1 a F8). O aumento da temperatura do forno promove o aumento da pressão interna das células de ar o que faz com que estas aumentem e provoquem a ruptura da matriz e o consequente aparecimento dos canais de ar (Kumar *et al.*, 2015). De referir que a formulação controlo possui maior quantidade de glúten, devido à maior quantidade de farinha de trigo relativamente às outras formulações, o que se traduz também numa imagem diferente das restantes. Pode-se observar em todas as formulações os grânulos de amido sem diferenças aparentes entre as diversas imagens. Da mesma forma, observa-se em todas as imagens a existência de uma matriz de proteína que incorpora os grânulos de amido. Concluiu-se que a adição de proteína, independentemente da concentração, influenciou a microestrutura das bolachas de massa *short*, provocando a sua compactação. A adição de cálcio e vitamina D, não parece ter tido influência na microestrutura das bolachas, de referir que estas foram adicionados em quantidades reduzidas.

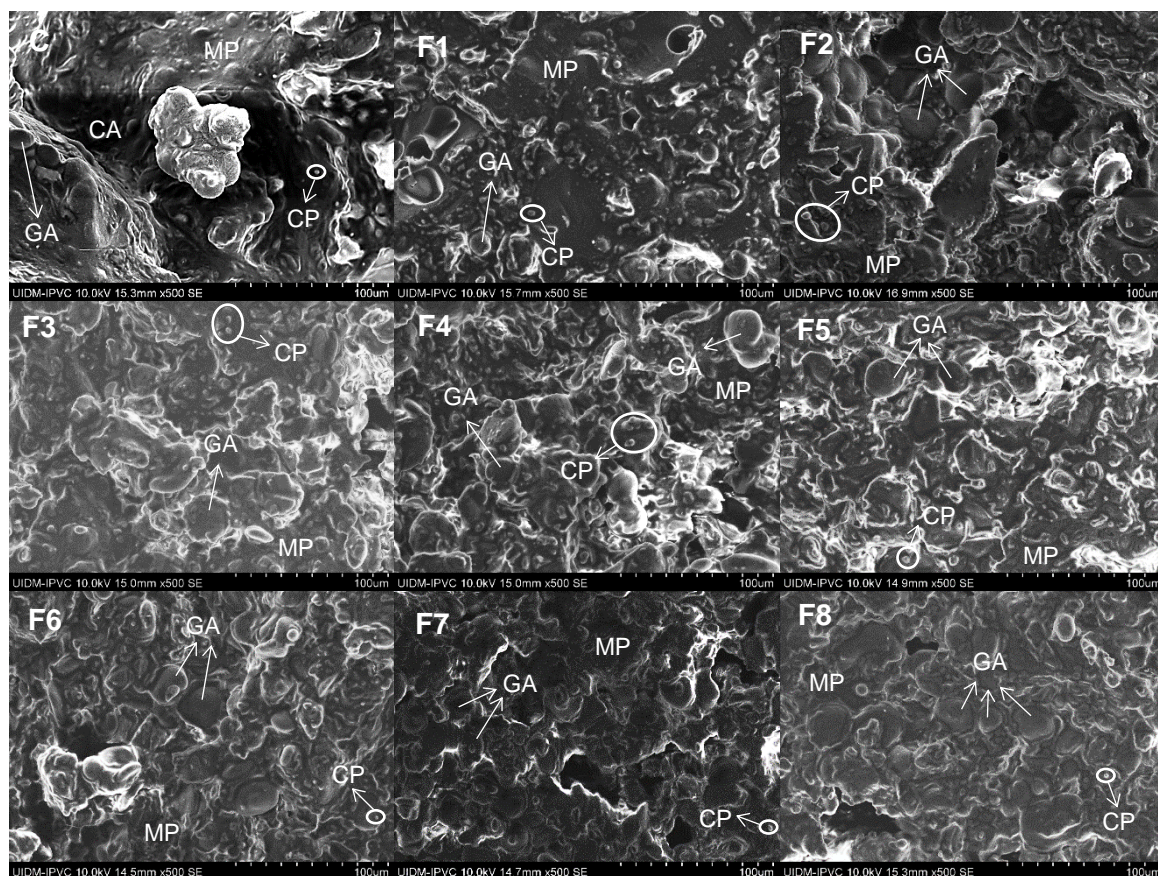


Figura 25 – Imagens obtidas da MVE da microestrutura interna (corte lateral) para as bolachas F1 a F8 (com adição de proteína), assim como a formulação controle (C, sem adição de proteína). Ampliação de 500x.
 Legenda: GA – grânulo de amido, CP – corpo proteico, MP – matriz proteica, CA – canal de ar.

4.2.10 ANÁLISE MULTIVARIADA DOS DADOS FÍSICO-QUÍMICOS

De forma a completar a análise aos dados físico-químicos, procedeu-se a uma análise à correlação entre eles. Deste modo, os resultados foram analisados através de uma análise multivariada, análise de componentes principais (ACP), que permite verificar as relações entre variáveis de um mesmo conjunto de dados. Nesta análise, são resumidas nas componentes principais conjuntos de variáveis (parâmetros analíticos) correlacionadas. A primeira componente principal é a que contém a maior parte da informação inicial (variáveis) importante e relevante para a interpretação dos resultados das metodologias analíticas usadas neste estudo, seguida da CP 2 (Barbosa *et al.*, 2011). A Figura 26 que apresenta o gráfico das CP 1 vs CP 2 com a projeção das amostras analisadas permitiu determinar diferenças entre amostras e quais os parâmetros mais relevantes nessa diferenciação. As duas primeiras componentes principais contém cerca de 92% da informação total.

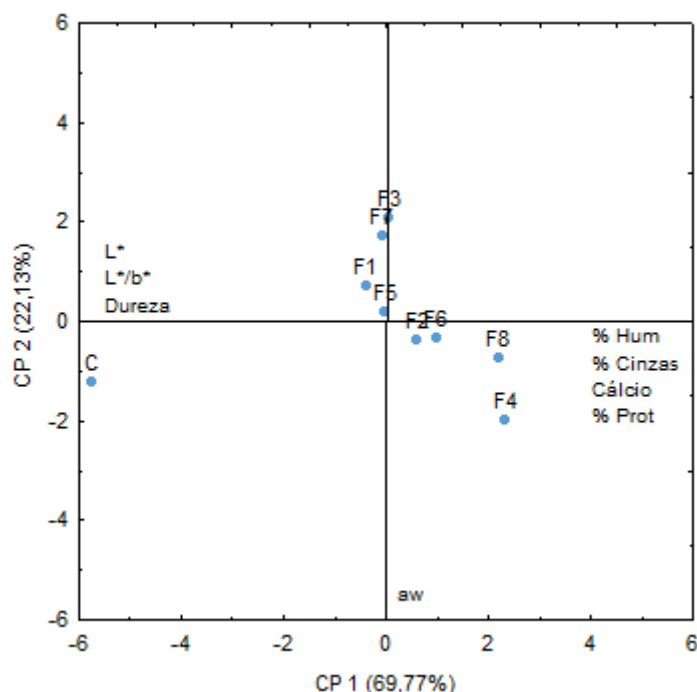


Figura 26 – Representação dos componentes principais (CP 1 vs CP 2) aplicada aos dados das análises físico-químicas das bolachas da fase II com projeção dos casos (formulações). (F1 a F8 formulações apresentadas na Tabela VI).

Nesta análise, a CP1, o eixo horizontal do gráfico, representa a correlação direta entre o teor de humidade, teor em cinzas, teor de cálcio e teor de proteína (aumentam para o lado direito do gráfico), inversamente correlacionados com os valores de L^* , L^*/b^* e Dureza (aumentam para o lado esquerdo do gráfico). A CP2, o eixo vertical da Figura 26, contém informação relevante apenas relativamente à a_w (aumenta para baixo). Note-se que, relativamente à CP 1, esta variável já tem muito menos importância na distinção das amostras. O teor de vitamina D não está contemplado no gráfico pois apresenta pouca correlação com os fatores analisados (Apêndice VI).

Como se pode verificar, a formulação controlo distancia-se das formulações do planeamento experimental, caracterizada por uma maior dureza, assim como uma maior luminosidade e cor amarelada representadas (valores de L^* e L^*/b^* , respetivamente). O planeamento experimental debruçou-se sobre o enriquecimento de bolachas com proteína de ervilha, cálcio e vitamina D. Deste modo, as formulações apresentaram um maior valor de proteína, cálcio e vitamina D, assim como teor em cinzas, relativamente à formulação controlo.

Na figura 16, vêem-se projetadas as formulações com identificação ímpar (F1, F3, F5 e F7) ligeiramente afastadas das formulações com identificação par (F2, F4, F6 e F8) que

correspondem às designações “fonte de proteína” e “alto teor em proteína”, respetivamente. Verifica-se ainda que, as bolachas F4 e a F8 se destacam no sentido positivo da CP 1, tendendo para valores mais elevados de cálcio e cinzas, bem como valores também mais elevados de a_w .

No desenvolvimento de produtos de panificação funcionais, é importante perceber que a obtenção de alimentos funcionais não implica simplesmente a entrega do princípio ativo no nível apropriado para eficiência fisiológica, mas também o fornecimento de um produto que vai de encontro aos requisitos do consumidor em termos de aparência, sabor e textura. Neste sentido tem-se considerado que os produtos de panificação constituem muitas vezes a matriz ideal para a funcionalidade estar disponível para o consumidor, num alimento agradável do ponto de vista organolético (Siró *et al.*, 2008).

4.2.11 ANÁLISE SENSORIAL COM PAINEL DE PROVADORES

Atualmente, a validação de novas formulações ou mesmo apenas a adição de um ingrediente novo, como por exemplo um promotor de um princípio ativo, num produto alimentar, requer uma avaliação sensorial por um painel treinado (Meilgaard *et al.*, 1999b). Deste modo, o painel de provadores voltou a ser chamado a avaliar as novas formulações, permitindo traçar o perfil sensorial dessas bolachas (Figura 27).

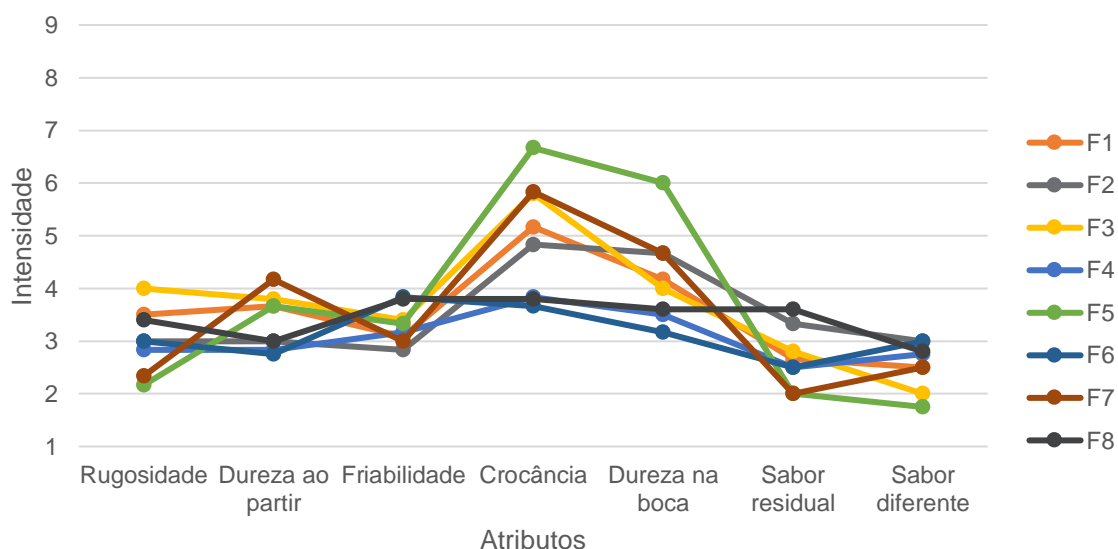


Figura 27 – Resultados da ADQ realizada pelo painel semi-treinado para as formulações do planeamento experimental (F1 a F8).

Os resultados apresentados na Figura 27 permitem dizer que, de uma forma geral, nos atributos “dureza ao partir” e “dureza na boca”, as formulações com fonte de proteína (F1, F3, F5 e F7) apresentam uma maior intensidade, indo de encontro aos resultados obtidos

na determinação da dureza instrumental (Figura 24). Relativamente ao atributo “crocância”, verifica-se que as formulações com fonte de proteína foram classificadas com uma maior intensidade, sendo que a F5 se destaca como sendo a mais crocante. Mestdagh *et al.* (2008) concluíram que a adição de cálcio a batatas fritas provocou uma textura mais crocante. As formulações classificadas com maior crocância a seguir à F5, foram a F3 e F7 que foram enriquecidas com “alto teor em cálcio”.

O painel considerou que todas as formulações apresentaram “sabor diferente” e “sabor residual”, sendo o último mais pronunciado nas formulações F2 e F6 (“alto teor em proteína”).

À semelhança da fase I, também se realizou uma AVC que é possível visualizar na Figura 28. Foi construída uma matriz com 48 linhas (8 amostras x 6 provadores) e 7 colunas (7 atributos descritos no subcapítulo 3.5.10).

A AVC da Figura 28 mostra alguma dispersão entre a opinião dos provadores. Esta dispersão é atribuída à semelhança entre as amostras na generalidade das propriedades físico-químicas analisadas.

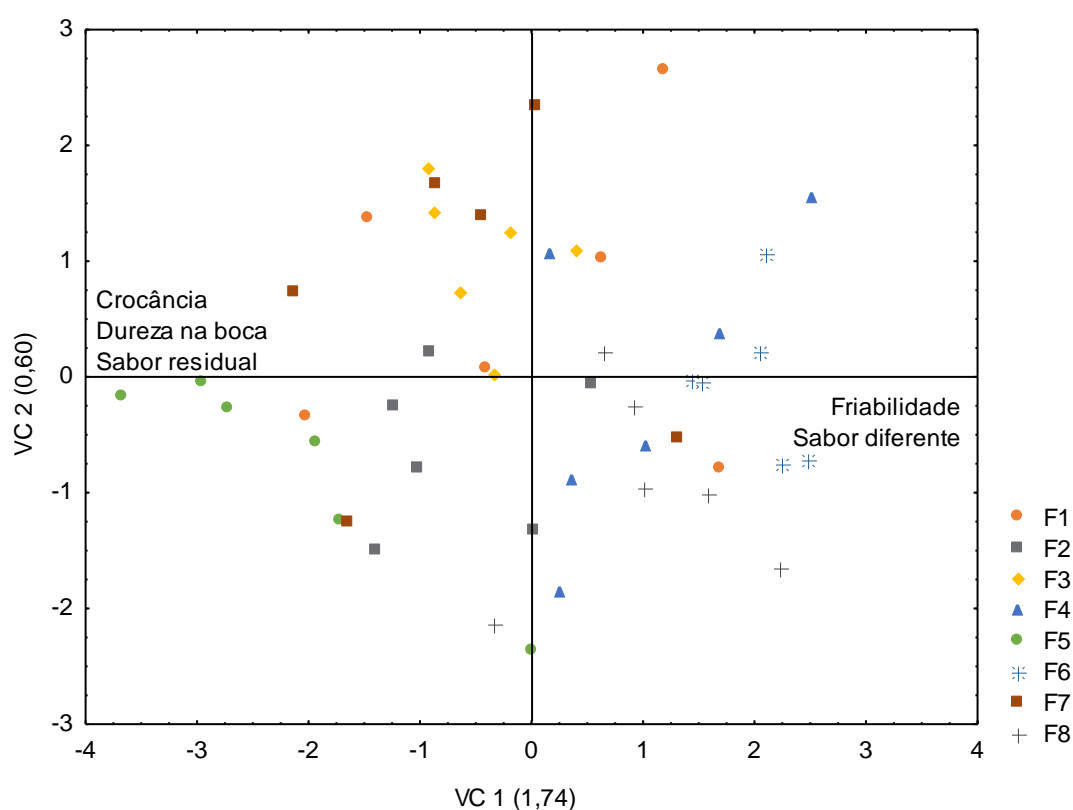


Figura 28 – Análise de variáveis canônicas dos dados da análise sensorial das bolachas do planeamento experimental.

Verifica-se que o painel discriminou as formulações F5 e F6, colocando-as em lados opostos da VC 1. A formulação F5 ficou situada no lado esquerdo da VC 1, por ser considerada mais crocante, com maior dureza na boca e sabor residual mais intenso. A F6 foi projetada no lado direito da VC 1, estando classificada como a formulação com maior “friabilidade” e “sabor diferente”.

As restantes formulações não são percebidas como diferentes pelos provadores.

A variável canónica 2 não tem discriminação suficiente (0,60) para ser considerada relevante nesta análise.

Para a realização da prova de aceitabilidade na fase seguinte, selecionaram-se as formulações F5 e F7, porque foram as formulações avaliadas com maior crocância na ADQ (Figura 27). Considerou-se ambas, porque a F5 não é tão dura instrumentalmente (Figura 24), o que é uma característica importante para bolachas cujo público alvo é o consumidor sénior, e a F7, porque possui “alto teor em cálcio” tornando-a numa opção mais rica a nível nutricional (Figura 20). A F8 é a formulação que possui “alto teor em proteína, cálcio e vitamina D”, convertendo-a na melhor opção nutricionalmente. Antes da realização da prova de aceitabilidade, todos os provadores preencheram o inquérito referido no ponto anterior e foram incluídos no estudo (Apêndice V).

4.3 FASE III – ESTUDO DO CONSUMIDOR E ACEITABILIDADE

O estudo de mercado pretende investigar o potencial de mercado para produtos novos no que diz respeito às motivações, necessidades e opções de compra do consumidor. A aceitabilidade de um alimento novo é determinante, na maior parte das vezes, para o sucesso da sua implementação e consolidação no mercado (Sivakumar *et al.*, 2010). Durante o ciclo típico de desenvolvimento de um novo produto, os testes afetivos são necessários para confirmar que as características do produto vão de encontro ao que o consumidor espera (Meilgaard *et al.*, 1999a). Neste sentido, foi realizado um inquérito *online* e presencial para auscultação da receptividade do consumidor relativamente a estes produtos, nomeadamente uma bolacha enriquecida com proteína, cálcio e vitamina D. A caracterização demográfica e socioeconómica, perfil do consumidor e padrão de consumo, foi realizada, tendo respondido 382 pessoas distribuídas por todo o país, com maior incidência em Viana do Castelo (47,6%), Braga (25,1%) e Porto (11,5%). Os resultados do inquérito encontram-se resumidos na Tabela IX.

Tabela IX – Respostas dos indivíduos ao inquérito aos hábitos de consumo (n=382).

Perguntas	Respostas	n	Frequência (%)
<i>Secção A – Informação demográfica e sócio-económica</i>			
1. Sexo	Feminino	281	73,6%
	Masculino	101	26,4%
2. Idade	Menos de 18	0	0,0%
	18-25	168	44,0%
	26-35	73	19,1%
	36-45	58	15,2%
	46-55	35	9,2%
	56-65	24	6,3%
	66-75	15	3,9%
	Mais de 75	9	2,4%
3. Distrito	Aveiro	8	2,1%
	Beja	4	1,0%
	Braga	96	25,1%
	Bragança	4	1,0%
	Castelo Branco	8	2,1%
	Coimbra	5	1,3%
	Évora	2	0,5%
	Faro	1	0,3%
	Guarda	2	0,5%
	Leiria	1	0,3%
	Lisboa	9	2,4%
	Porto	44	11,5%
	Santarém	5	1,3%
	Setúbal	4	1,0%
	Viana do Castelo	182	47,6%
	Vila Real	2	0,5%
	Viseu	3	0,8%
	Ilhas	2	0,5%
4. Habilitações	≤6º ano	12	3,1%
	9º ano	6	1,6%
	12º ano	87	22,8%
	Curso superior	195	51,0%
	Mestrado	44	11,5%
	Doutoramento	24	6,3%
5. Situação Profissional	Empregado a tempo integral	182	47,6%
	Empregado a tempo parcial	19	5,0%
	Desempregado	31	8,1%
	Doméstico	0	0,0%
	Estudante	121	31,7%
	Reformado	25	6,5%
6. Composição do agregado familiar	1	43	11,3%
	2	75	19,6%
	3	110	28,8%
	4	113	29,6%
	>5	41	10,7%
7. Rendimento mensal	Totalmente insuficiente	10	2,6%
	Apenas consegue satisfazer as necessidades básicas	54	14,1%

	Consegue satisfazer algumas necessidades, mas não todas	93	24,3%
	Consegue satisfazer todas as necessidades	159	41,6%
	Consegue satisfazer todas as necessidades e ainda sobra	66	17,3%
<i>Secção B – Perfil do Consumidor</i>			
8. De um modo geral, como classifica a sua saúde?	1	3	0,8%
	2	8	2,1%
	3	81	21,2%
	4	230	60,2%
	5	60	15,7%
9. Qual a sua opinião acerca de alimentos que alegam melhorar a saúde?	Reconheço que podem melhorar	98	25,7%
	Reconheço que apenas podem contribuir para a melhoria	215	56,3%
	Tenho algumas dúvidas	68	17,8%
	Não acredito	1	0,3%
10. Na compra dos seus alimentos, seleciona-os por apresentarem alegações nutricionais?	Sim	179	46,9%
	Não	203	53,1%
11. Costuma consumir alimentos funcionais?	Sim	230	60,2%
	Não	152	39,8%
12. Com que frequência consome alimentos funcionais?	Todas as vezes que como	7	3,0%
	A maior parte das vezes	81	35,7%
	Às vezes	130	56,5%
	Raramente	11	4,8%
	Nunca	0	0,0%
	Não sei	0	0,0%
13. Em que momentos do dia é que consome alimentos funcionais?	Pequeno-almoço	163	70,9%
	Lanche da manhã	80	34,8%
	Almoço	169	10,9%
	Lanche da tarde	143	62,2%
	Jantar	27	11,7%
	Ceia	28	12,2%
14. Na sua opinião, quanto é que acha que a fortificação dos alimentos altera o seu sabor?	Muito	5	2,2%
	Uma quantidade razoável	37	16,1%
	Ligeiramente	116	50,9%
	Nada	52	22,6%
	Não sei	19	8,3%
15. Na sua opinião, qual a vantagem em consumir alimentos funcionais em comparação com alimentos regulares?	Sempre mais vantajoso do que consumir alimentos não enriquecidos	63	27,4%
	Mais vantajoso na maioria das vezes	125	54,3%
	É igual na maioria das vezes	30	13,0%
	Geralmente, menos vantajoso	2	0,9%
	Sempre menos vantajoso do que consumir alimentos enriquecidos	1	0,4%
	Não sei	9	3,9%
16. Quanto lhe agrada a ideia de consumir alimentos que	Agrada-me extremamente	95	24,9%
	Agrada-me	223	58,4%

declaram benefícios para a saúde?	Indiferente	59	15,4%
	Desagrada-me	0	0,0%
	Desagrada-me extremamente	1	0,3%
<i>Secção C – Padrão de Consumo</i>			
17. Costuma consumir bolachas?	Sim	331	86,6%
	Não	51	13,4%
18. Indique, por favor, a frequência com que costuma consumir bolachas.	Todos os dias da semana	74	22,4%
	Mais do que uma vez por semana	192	58,0%
	Uma vez por semana	48	14,5%
	Uma vez por mês	12	3,6%
	Raramente	5	1,5%
19. Que tipo de bolachas costuma consumir?	Bolachas de água e sal	135	16,9%
	Bolachas integrais	132	16,5%
	Bolachas de cereais	201	25,2%
	Bolachas enriquecidas	36	4,5%
	Bolachas recheadas	120	15,0%
	<i>Cookies</i>	92	11,5%
	Outras	83	10,4%
20. O que considera mais importante numa bolacha?	Aspeto	47	7,7%
	Crocância	147	23,9%
	Sabor	283	46,1%
	Ser um <i>snack</i> saciador	101	16,4%
	Prazer doce	36	5,9%
21. Interesse em consumir uma bolacha enriquecida com proteína, cálcio e vitamina D.	Muito interessado	121	31,7%
	Interessa-me ligeiramente	173	45,3%
	Interessa-me pouco	70	18,3%
	Nada interessado	18	4,7%

A grande maioria dos participantes no inquérito é do sexo feminino (73,6%) e a faixa etária mais representativa é a dos 18 aos 25 anos, representando 44,0% da amostra. Relativamente à formação académica completa, cerca de metade dos inquiridos (51,0%) possui um curso superior e 22,8% possui o 12º ano. No que concerne à situação profissional, 47,6% da população inquirida está empregada a tempo integral e 31,7% é estudante, sendo que os reformados representam cerca de 6,5% da amostra. Quanto à composição do agregado familiar, a maioria dos indivíduos vive com outras pessoas, sendo as famílias compostas por 3 a 4 elementos, que representam 28,8 e 29,6% da população inquirida, respetivamente. Relativamente ao rendimento mensal, 41,6% dos inquiridos responderam que este consegue satisfazer todas as necessidades e 2,6% referiram que o seu rendimento é totalmente insuficiente.

Na secção B do inquérito que define o perfil do consumidor, 60,2% da população classificou a sua saúde como boa (nível 4, numa escala de resposta de 1 a 5, do inquérito), estando a maior parte destes nas faixas etárias dos 18–25, 26–35 e 36–45. Quando questionada a opinião dos inquiridos acerca de alimentos que alegam melhorar a saúde, 25,7% e 56,3%

referiu que estes podem melhorar ou contribuir para a melhoria da saúde, respetivamente. Quando os consumidores escolhem entre alimentos convencionais e funcionais, as razões por trás dessa escolha são diferentes entre as diferentes categorias de alimentos. Um estudo de Poulsen (1999) sobre as atitudes dos consumidores dinamarqueses relativamente aos alimentos funcionais descobriu que tanto a substância usada para enriquecimento como o tipo de produto enriquecido afetam fortemente as atitudes dos consumidores relativamente aos alimentos funcionais entre os consumidores dinamarqueses. Deste modo, os alimentos funcionais devem ser estudados não como um grupo homogêneo, mas como produtos separados dentro das várias categorias alimentares (Siró *et al.*, 2008). Menrad (2003) referiu que a aceitabilidade de ingredientes funcionais específicos está ligada ao conhecimento dos consumidores dos efeitos na saúde desses ingredientes. Deste modo, os ingredientes funcionais que estão na mente dos consumidores durante um período de tempo relativamente longo (exemplo: vitaminas, fibras, minerais: cálcio, ferro) alcançam taxas mais altas de aceitabilidade do consumidor do que os ingredientes que são usados por um curto período de tempo (exemplo: flavonoides, carotenoides, ácidos gordos ómega-3). No presente estudo, de um modo geral, a maior parte dos indivíduos mostrou uma grande concordância com os alimentos funcionais (Figura 29).

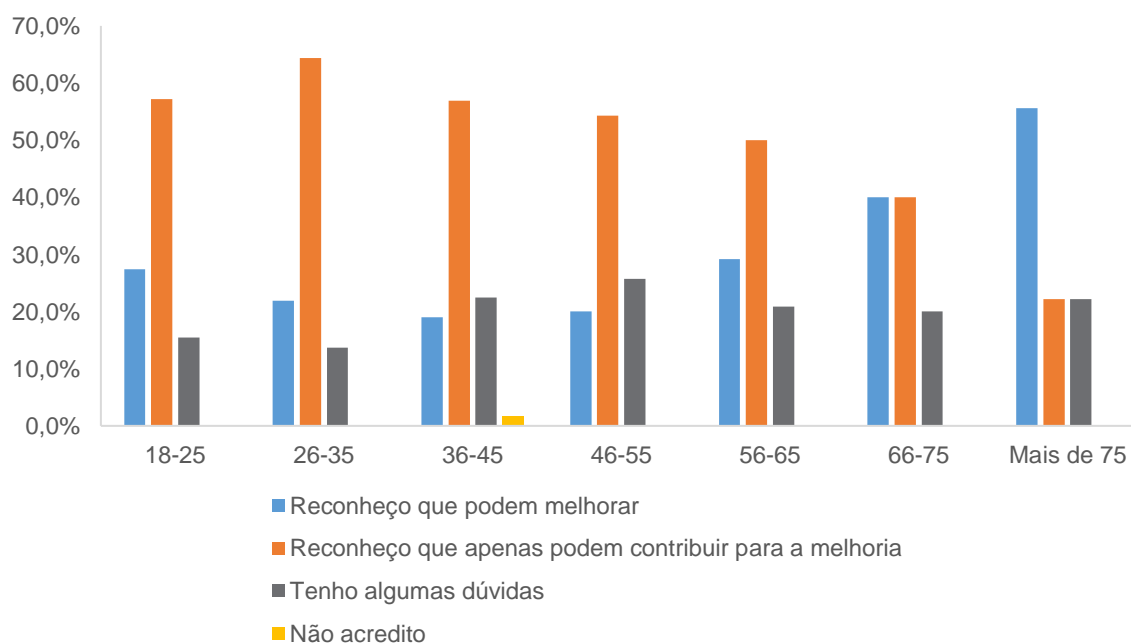


Figura 29 – Concordância com os alimentos funcionais segundo os intervalos de idades (36-45, 46-55, 56-65, 66-75 e mais de 75).

No que diz respeito à compra dos alimentos, 53,1% referiu que ao comprá-los não tinha em consideração as alegações nutricionais, contudo 46,9% referiu que as tinha em consideração indo de encontro à tendência também comentada por Siró *et al.* (2008) que afirma que cada vez mais consumidores acreditam que os alimentos podem contribuir diretamente para a sua saúde. Dos inquiridos, 60,2% referiu que consumia alimentos funcionais e destes, 64,8% são do sexo feminino. A maior parte dos estudos de aceitabilidade realizados com alimentos funcionais identificaram que o típico consumidor de alimentos funcionais é do sexo feminino, com um nível de escolaridade e rendimento mais elevado, assim como uma idade superior a 55 anos (Siró *et al.*, 2008). É compreensível que, quanto mais elevado o grupo socioeconómico, bem como quanto mais e melhor conhecimento e maior consciência relativamente aos alimentos funcionais, maior a disponibilidade ou capacidade em pagar um preço mais elevado por produtos *premium* (Hilliam, 1996).

Os consumidores de meia idade e idosos estão mais conscientes dos problemas de saúde porque eles, ou membros do seu meio social mais próximo, são muito mais propensos a ser diagnosticados com uma doença relacionada com o estilo de vida do que os consumidores mais jovens (Verbeke, 2006). Contudo, deve enfatizar-se que ao considerar-se a influência do género, idade e educação, tanto o tipo de alimento funcional como a alegação devem estar incluídos (Siró *et al.*, 2008). O consumo de alimentos funcionais foi estudado em alguns países europeus (França, Grã-Bretanha, Alemanha, Itália, Polónia e Portugal) e concluiu-se que os mais jovens, particularmente as mulheres, procuravam alimentos para controlar o apetite e peso corporal, enquanto os idosos procuravam alimentos para baixar o colesterol e pressão arterial. Também verificaram que os indivíduos educados para além do nível primário procuravam alimentos funcionais mais frequentemente do que aqueles com menos habilitações literárias (Stewart-Knox *et al.*, 2007).

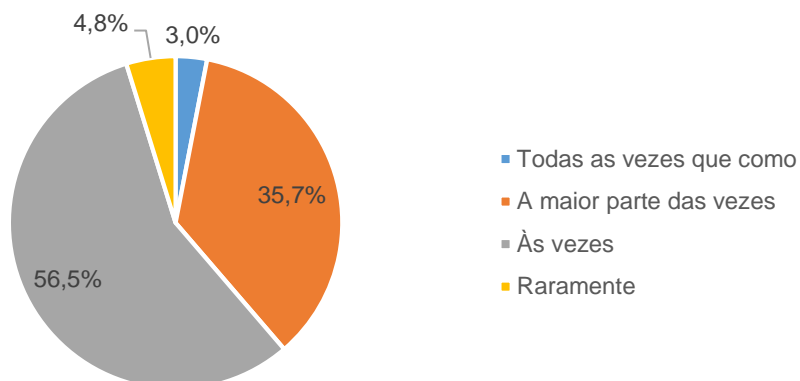


Figura 30 – Frequência do consumo de alimentos funcionais.

Quando questionados quanto à frequência de consumo de alimentos funcionais, 56,5% respondeu “às vezes”, sendo que 35,7% respondeu “a maior parte das vezes” e 3,0% “todas as vezes que como”. Quando questionados relativamente aos momentos do dia em que consumiam alimentos funcionais, o pequeno-almoço foi o mais respondido (70,9%), seguindo-se do lanche da tarde (62,2%) e do lanche da manhã (34,8%).

A Figura 31 resume a opinião dos inquiridos relativamente à influência da fortificação dos alimentos no seu sabor. 69,1% dos inquiridos que consomem alimentos funcionais respondeu que considera que influenciava, sendo que 50,9% respondeu que apenas influenciava ligeiramente. Dos restantes, 22,6% respondeu que não influenciava nada e 8,3% respondeu que não sabia. Um estudo de consumo de alimentos funcionais realizado pela IFIC (2013) verificou que 50% dos inquiridos era da opinião que a fortificação dos alimentos alterava o seu sabor, sendo que 32% respondeu que alterava ligeiramente. Relativamente a esta questão é importante salientar que a percepção de alguns sabores e aromas diferentes do “caraterístico” varia com o estado fisiológico e idade do consumidor (Giacalone *et al.*, 2016).

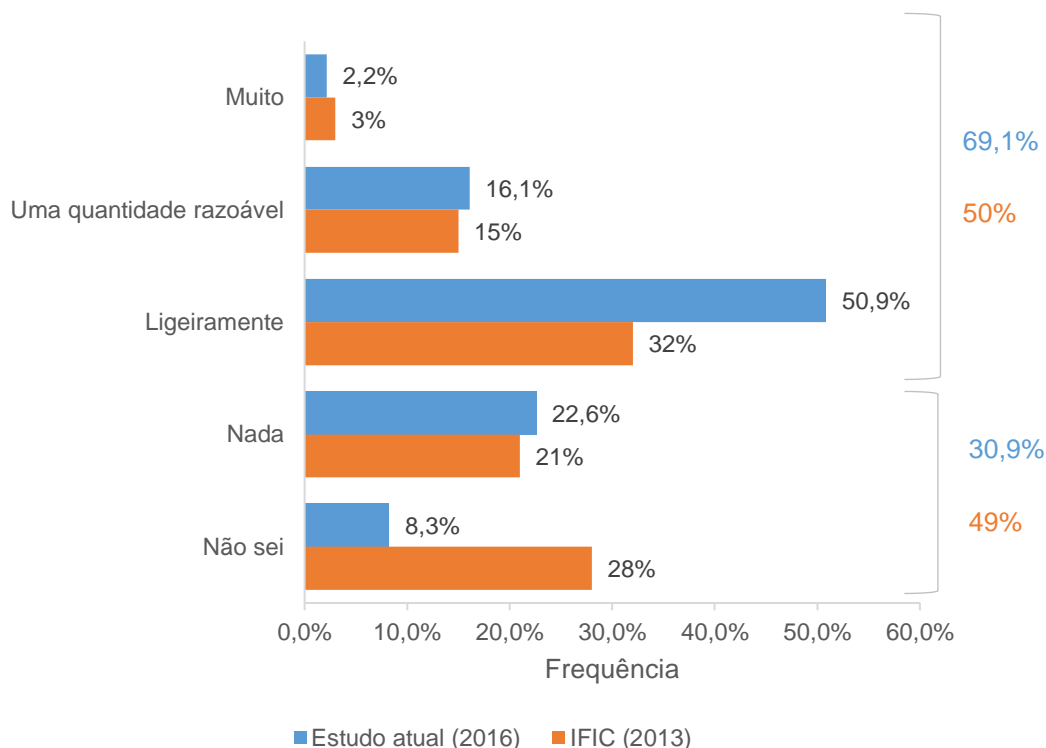


Figura 31 – Influência da fortificação dos alimentos no sabor – comparação entre estudos.

Quando questionados sobre a vantagem do consumo de alimentos funcionais, 54,3% consideram que o seu consumo é “na maioria das vezes” mais vantajoso e 27,4% consideram que “é sempre” mais vantajoso. Um estudo realizado pela IFIC, em 2013, verificou que apenas metade dos consumidores achavam que os alimentos fortificados eram mais vantajosos do que os não fortificados (IFIC, 2013). Ainda na secção B, quando questionados sobre o quanto lhes agradava o consumo de alimentos que declaram benefícios para a saúde, a maior parte dos inquiridos respondeu “agrada-me” (58,4%) e “agrada-me extremamente” (24,9%).

No que concerne a secção C do inquérito que visa avaliar o padrão de consumo do inquirido, nomeadamente o consumo de bolachas, 86,6% responderam afirmativamente e quando questionados relativamente à frequência do seu consumo, a maioria respondeu “mais do que uma vez por semana” (58,0%) e “todos os dias da semana” (22,4%). O tipo de bolachas mais consumido são as bolachas de cereais (25,2%), seguindo-se das bolachas de água e sal (16,9%) e bolachas integrais (16,5%). O sabor (46,1%) foi o atributo considerado mais importante, seguindo-se da crocância (23,9%) e ser um *snack* que satisfaça a fome (16,4%). A última pergunta do questionário pretendeu auscultar o interesse dos inquiridos em consumir uma bolacha enriquecida com proteína, cálcio e vitamina D, ao que 45,3% e 31,7% responderam “interessa-me ligeiramente” e “muito

interessado”, respetivamente (Figura 32). Estes resultados mostram que há um grande interesse no consumo de uma bolacha enriquecida com proteína, cálcio e vitamina D, pelo que se verifica que há a possibilidade de entrar com este produto no mercado.

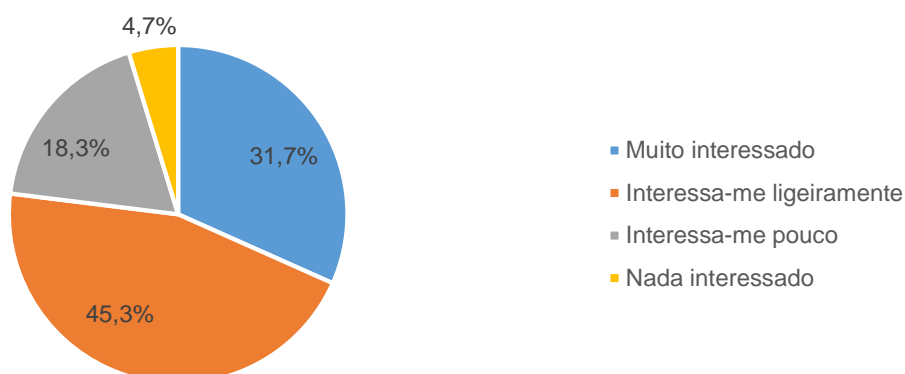


Figura 32 – Interesse em consumir uma bolacha enriquecida com proteína, cálcio e vitamina D.

4.3.1 ACEITABILIDADE DO PÚBLICO-ALVO

Foi também realizado um teste de aceitabilidade com consumidores, no qual os produtos foram avaliados por pessoas com idades acima dos 36 anos, sendo estas pessoas do Centro Social e Paroquial do Senhor do Socorro, familiares, professores e funcionários da ESTG-IPVC, fazendo um total de 51 consumidores. Os testes de aceitabilidade têm como principal objetivo avaliar hedonisticamente os produtos pelos potenciais consumidores, sem que este esteja associado a uma embalagem, marca, preço ou qualquer outro tipo de categorização que possa influenciar a sua avaliação (Meilgaard *et al.*, 1999a). Neste estudo, tal como referido anteriormente, os consumidores receberam 3 bolachas da fase II (“fonte de proteína e cálcio e alto teor em vitamina D” – F5, “fonte de proteína e alto teor em cálcio e vitamina D” – F7 e “alto teor em proteína, cálcio e vitamina D” – F8) e avaliaram, de forma global, o seu grau de aceitação relativo a cada amostra numa escala hedónica de 9 pontos (1 – extremamente desagradável a 9 – extremamente agradável). Antes da realização da prova de aceitabilidade, todos os provadores preencheram o inquérito referido no ponto anterior e foram incluídos no estudo (Apêndice V).

Relativamente à aceitabilidade, a Figura 33 mostra a opinião dos consumidores relativamente às amostras F5 (896), F7 (323) e F8 (542).

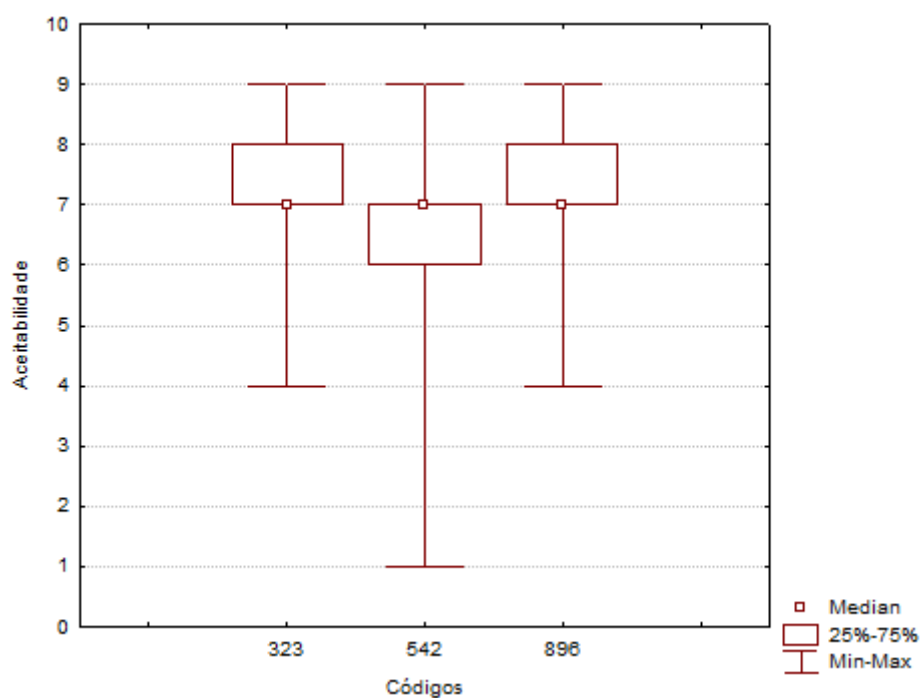


Figura 33 – Diagramas de dispersão interquartílica da aceitabilidade das formulações com adição de proteína de ervilha, cálcio e vitamina D (323 – F7, 542 – F8 e 896 – F5).

Analisando a Figura 33, as amostras parecem apresentar uma distribuição normal, pois as classes centrais (caixas) são estreitas e as classes extremas (bigodes) bem mais compridas. Verifica-se que as amostras 323 (F7) e 896 (F5) são pontuadas de forma semelhante. Em ambos os casos, 75% dos inquiridos, pontua as bolachas acima de 7 (agradável), considerando-se assim como tendo uma aceitabilidade elevada, apresentando potencial para a inclusão no mercado. Para a amostra 542 (F8), 75% da população inquirida pontuou abaixo de 7, o que indica que há mais potenciais consumidores a considerar a amostra abaixo do aceitável configurando assim, um caso onde a diferenciação por parte dos inquiridos leva à rejeição desta formulação, com um nível de confiança de ($p < 0,05$).

Realizou-se também um teste não paramétrico Kruskal-Wallis que é usado para comparar dados não paramétricos de três ou mais amostras, testando-se a hipótese nula, de que as diferentes amostras na comparação foram tiradas a partir da mesma distribuição ou de distribuições com a mesma mediana. Deste modo, o teste mostra que os consumidores consideram que a amostra 542 se distingue das restantes e que esta diferença é estatisticamente significativa ($p < 0,05$, Tabela X). Relativamente às outras duas amostras, essa diferença não é relevante.

Tabela X – Resultados do teste não paramétrico Kruskal-Wallis realizado aos resultados da aceitabilidade das amostras 323, 542 e 896. Os valores em itálico são estatisticamente diferentes ($p < 0,05$).

Código da amostra	323	542	896
323		<i>0,005</i>	1,000
542	<i>0,005</i>		<i>0,040</i>
896	1,000	<i>0,040</i>	

Para se verificar a relação entre a aceitabilidade e as características dos indivíduos (sexo e idade) que provaram as amostras realizou-se uma análise de correspondências. Na Figura 34 pode observar-se que a primeira dimensão separa os consumidores com mais de 75 anos, à direita, dos restantes projetando-os à esquerda. Nesta análise, os consumidores do sexo masculino, são coincidentemente também projetados no lado mais à direita do gráfico. Isto sugere que a maior parte dos consumidores mais velhos são homens. Tendo em conta que as amostras 323 e 896 não apresentaram diferenças estatisticamente significativas relativamente à aceitabilidade, do lado esquerdo do eixo verifica-se que a amostra 323 está mais próxima do sexo feminino, pelo que se depreende que as mulheres, de forma geral, pontuaram mais a amostra 323. Tal como já referido anteriormente, a perceção de alguns sabores e aromas varia com o estado fisiológico e idade do consumidor (Giacalone *et al.*, 2016). Os indivíduos com idades entre 36-45, os mais novos dos inquiridos, encontram-se distanciados relativamente aos restantes, no entanto não lhes é atribuída muita importância, pois representa apenas um consumidor (Apêndice VII). No eixo Dim 2, 2ª dimensão desta análise observa-se que as amostras 896 e 323, projetadas nos quadrantes superiores do gráfico se afastam da amostra 542 na parte inferior. Os indivíduos com idade entre 66-75 estão perto da amostra 542, o que sugere que os consumidores nessa faixa etária, pontuaram melhor a amostra 542. Esta amostra corresponde à bolacha com “alto teor” de proteína, cálcio e vitamina D (F8), cuja textura já havia revelado valores de dureza inferiores, relativamente às restantes. Pode com isto justificar-se a atribuição de pontuação mais elevada por parte dos consumidores com idade acima dos 66 anos. Este facto sugere que as fragilidades fisiológicas, ao nível ortodôntico e outros fatores bucais podem influenciar a sua apreciação recaiando, na maioria das vezes a preferência por alimentos mais moles, tal como comentado por alguns indivíduos. A amostra 896 está muito próxima dos intervalos de idades 46-55 e 56-65 o que sugere que os consumidores que se situam neste intervalo de idades pontuaram melhor esta amostra, no que respeita à aceitabilidade.

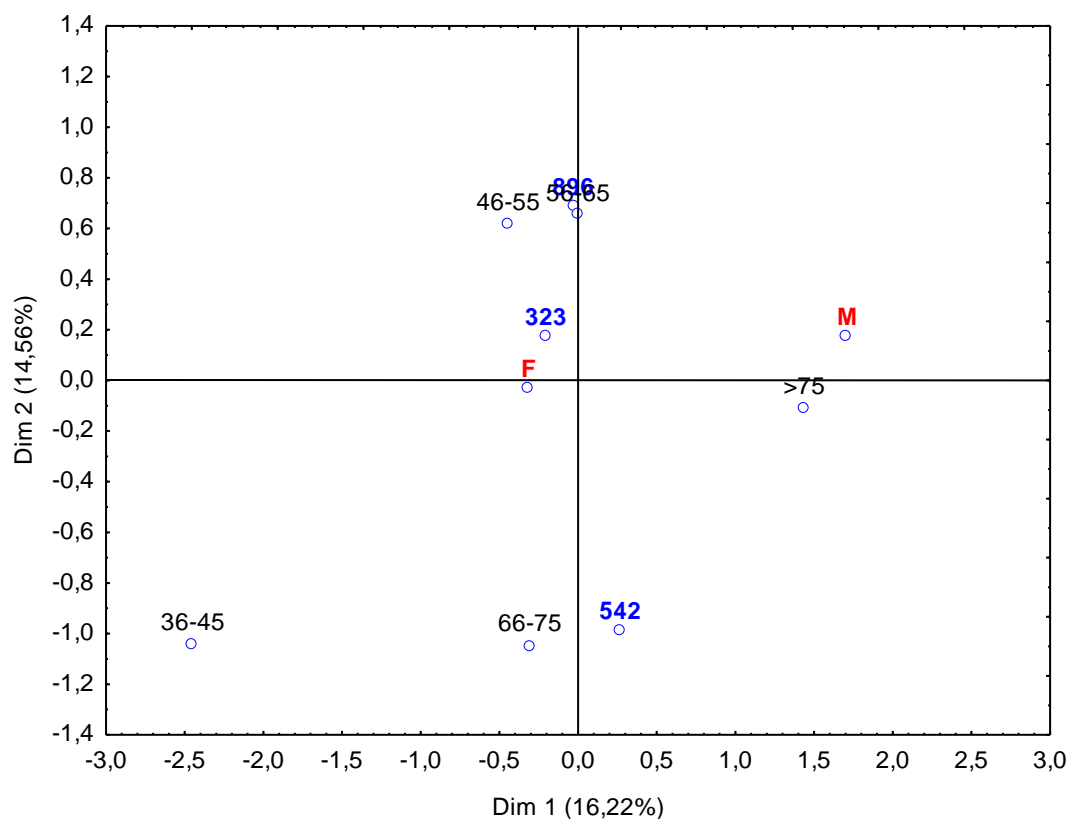


Figura 34 – Análise de correspondências das pontuações dos provadores na aceitabilidade das bolachas, categorizados pelo sexo e faixa etária (amostras: 323 – F7, 542 – F8 e 896 – F5; gênero: feminino (F) e masculino (M); intervalo de idades: 36-45, 46-55, 56-65, 66-75, >75 – mais de 75).

Siró *et al.* (2008) refere-se a vários estudos, que mostraram que a aceitabilidade do consumidor de alimentos funcionais está longe de ser incondicional, sendo que uma das principais razões para a aceitabilidade é o sabor, para além da qualidade do produto, preço, conveniência e confiança nas alegações de saúde. Como regra, os consumidores parecem avaliar os alimentos funcionais primeiramente como alimentos considerando que os benefícios funcionais podem fornecer um valor acrescentado ao produto em termos de saúde, mas não consideram que este benefício prevaleça sobre as propriedades organoléticas (Siró *et al.*, 2008). É importante ter em atenção que os idosos são um grupo alvo muito heterogêneo a vários níveis, nomeadamente nas funções gustativas e olfativas. Em média, os limites para a identificação e deteção do sabor aumentam com o aumento da idade. Dos quatro sabores básicos, a percepção do doce é a melhor preservada contra efeitos prejudiciais do envelhecimento (Giacalone *et al.*, 2016).

5 CONCLUSÃO

Com a realização da primeira parte do trabalho foi possível concluir que a adição da proteína de soro do leite e da proteína de ervilha conferiu um teor em cinzas mais elevado relativamente à adição da proteína de arroz, enquanto que a adição da proteína de ervilha resultou em bolachas com menor teor de humidade. Com a proteína de soro do leite obteve-se a bolacha com a textura mais dura, o que foi confirmado pela ADQ, na qual o painel classificou esta formulação como sendo a mais dura. A formulação com proteína de arroz embora apresentando dureza semelhante à formulação com proteína de ervilha, o painel considerou que o sabor residual é consideravelmente superior com proteína de arroz. Assim, selecionou-se a proteína de ervilha para enriquecimento da bolacha na fase de otimização da formulação (segunda parte do trabalho).

Genericamente, na segunda parte do trabalho, concluiu-se que as formulações com “alto teor em proteína” resultaram em bolachas com a_w e teor de humidade superiores. Relativamente ao teor em cinzas, as formulações com “alto teor em proteína e/ou cálcio e/ou vitamina D” apresentaram os valores mais elevados. A adição de proteína diminuiu a luminosidade das bolachas. Os resultados obtidos para a textura permitiram concluir que a dureza diminuiu com o enriquecimento das bolachas, independentemente do teor adicionado. Acresce que a adição de “fonte de proteína” incrementa a dureza quando comparado com a adição de “alto teor em proteína”. No que refere à MVE, concluiu-se que a adição de proteína promoveu a compactação da microestrutura da bolacha. O painel de provadores concluiu que as formulações com “fonte de proteína” foram as mais duras e mais crocantes. Desta forma, com os resultados obtidos selecionaram-se três formulações, nomeadamente “fonte de proteína e cálcio e alto teor em vitamina D”, “fonte de proteína e alto teor em cálcio e vitamina D” e “alto teor em proteína, cálcio e vitamina D” para a realização da aceitabilidade dos consumidores.

Concluiu-se ainda que o processo produtivo não alterou as quantidades de proteína, cálcio e vitamina D, adicionadas à bolacha.

No que diz respeito ao estudo de consumidor, a informação recolhida através de um inquérito aos hábitos de consumo permitiu verificar que 60,2% dos inquiridos consumia alimentos funcionais, e 64,8% desta era do sexo feminino. A maior parte dos inquiridos referiu que lhes agradava o consumo de alimentos que declaram benefícios para a saúde. Cerca de 80% consome bolachas mais do que uma vez ou todos os dias da semana, e

77% mostrou interesse em consumir uma bolacha enriquecida com proteína, cálcio e vitamina D.

As formulações com maior aceitabilidade foram as formulações enriquecidas com “fonte de proteína e cálcio e alto teor em vitamina D”, e “fonte de proteína e alto teor em cálcio e vitamina D”.

Com este trabalho concluiu-se que, independentemente da formulação selecionada, é sempre possível fazer alegações nutricionais, sabendo que a bolacha desenvolvida apresenta elevado potencial de inclusão no mercado.

SUGESTÕES DE TRABALHO FUTURO

- Realização de modificações na formulação e condições de processamento, de forma a atingir características semelhantes à formulação controlo/da bolacha de massa *short*;
- Desenvolvimento de outros alimentos enriquecidos com proteína, cálcio e vitamina D;
- Realização de um estudo da biodisponibilidade dos nutrientes adicionados às bolachas.

6 BIBLIOGRAFIA

- Açar, O. C., Pollio, M., Di Monaco, R., Fogliano, V., & Gokmen, V. (2012). Effect of Calcium on Acrylamide Level and Sensory Properties of Cookies. *Food and Bioprocess Technology*, 5(2), 519-526. doi:10.1007/s11947-009-0317-5
- Allen, L. H., & Kerstetter, J. E. (2005). Calcium. In B. CABALLERO, L. ALLEN, & A. PRENTICE (Eds.), *Encyclopedia of Human Nutrition* (2nd ed.): Elsevier Academic Press.
- Alves, M. R. (2006). *Qualidade e autenticidade de Produtos – uso da quimiometria no estudo de parâmetros Químicos, Reológicos e Sensoriais*. (Tese de Doutorado), Universidade do Porto.
- Amin, T., Bashir, A., Dar, B. N., & Naik, H. R. (2016). Development of high protein and sugar-free cookies fortified with pea (*Pisum sativum* L.) flour, soya bean (*Glycine max* L.) flour and oat (*Avena sativa* L.) flakes. *International Food Research Journal*, 23(1), 72-76.
- AOAC. (1995a). AOAC Official Method 935.39 in Baked Products - B. Ash: AOAC INTERNATIONAL.
- AOAC. (1995b). AOAC Official Method 935.39 in Baked Products - C. Protein: AOAC INTERNATIONAL.
- AOAC. (1995c). AOAC Official Method 945.41 Calcium in bread: AOAC INTERNATIONAL.
- AOAC. (1995d). Solids (total) and loss on drying (moisture) in flour. Air oven method (Vol. 925.10): Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL.
- Arthur, S. T., & Cooley, I. D. (2012). The Effect of Physiological Stimuli on Sarcopenia; Impact of Notch and Wnt Signaling on Impaired Aged Skeletal Muscle Repair. *International Journal of Biological Sciences*, 8(5), 731-760. doi:10.7150/ijbs.4262

- Babault, N., Paizis, C., Deley, G., Guerin-Deremaux, L., Saniez, M. H., Lefranc-Millot, C., *et al.* (2015). Pea proteins oral supplementation promotes muscle thickness gains during resistance training: a double-blind, randomized, Placebo-controlled clinical trial vs. Whey protein. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, 12, 9. doi:10.1186/s12970-014-0064-5
- Baltsavias, A., Jurgens, A., & van Vliet, T. (1999). Properties of short-dough biscuits in relation to structure. *Journal of Cereal Science*, 29(3), 245-255. doi:10.1006/jcrs.1999.0250
- Barbosa, C., Oliveira, M., & Alves, M. R. (2011). Chemometrics in food authentication. In M. B. P. P. Oliveira, I. Mafra, & J. Amaral (Eds.), *Current Topics in Food Authentication* (pp. 237-268). Kerala, India: Transworld Research Network.
- Bauer, J. M., Verlaan, S., Bautmans, I., Brandt, K., Donini, L. M., Maggio, M., *et al.* (2015). Effects of a Vitamin D and Leucine-Enriched Whey Protein Nutritional Supplement on Measures of Sarcopenia in Older Adults, the PROVIDE Study: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. *Journal of the American Medical Directors Association*, 16(9), 740-747. doi:10.1016/j.jamda.2015.05.021
- Baum, J., & Wolfe, R. (2015). The Link between Dietary Protein Intake, Skeletal Muscle Function and Health in Older Adults. *Healthcare*, 3(3), 529.
- Belitz, H.-D., Grosch, W., & Schieberle, P. (2009). *Food Chemistry* (fourth ed.). Verlag Berlin Heidelberg: Springer.
- Bertolin, T. E., Centenaro, A., Giacomelli, B., Reinehr, C., & Gutkoski, L. C. (2013). Elaboration of biscuits with oatmeal and fat palm with added L-leucine and calcium for sarcopenia. *Food Science and Technology*, 33(2), 345-354. doi:10.1590/s0101-20612013005000054

- Blaszczyk, W., Fornal, J., & Ramy, A. (2004). Effect of emulsifiers addition on dough properties, baking quality and microstructure of biscuits. *POLISH JOURNAL OF FOOD AND NUTRITION SCIENCES*, 13/54, 343-348.
- Cashman, K. D. (2015). Vitamin D: dietary requirements and food fortification as a means of helping achieve adequate vitamin D status. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 148, 19-26. doi:10.1016/j.jsbmb.2015.01.023
- Chevallier, S., Colonna, P., Buleon, A., & Della Valle, G. (2000). Physicochemical behaviors of sugars, lipids, and gluten in short dough and biscuit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(4), 1322-1326. doi:10.1021/jf990435+
- Chevallier, S., Della Valle, G., Colonna, P., Broyart, B., & Trystram, G. (2002). Structural and chemical modifications of short dough during baking. *Journal of Cereal Science*, 35(1), 1-10. doi:10.1006/jcrs.2001.0388
- Doets, E. L., & Kremer, S. (2016). The silver sensory experience – A review of senior consumers' food perception, liking and intake. *Food Quality and Preference*, 48, Part B, 316-332. doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.foodqual.2015.08.010
- EFSA. (2010). Opinião Científica relativamente ao procedimento de autorização para as alegações de saúde para o cálcio e vitamina D e a redução do risco de fraturas osteoporóticas através da redução da perda óssea nos termos do artigo 14 do Regulamento (CE) nº 1924/2006 *EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA)*.
- EFSA. (2012). Scientific Opinion on Dietary Reference Values for protein *EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA)*. Parma, Italy.
- EFSA. (2015). Scientific Opinion on Dietary Reference Values for calcium *EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA)*. Parma, Italy.

- EFSA. (2016). Draft Scientific Opinion on Dietary Reference Values for vitamin D
EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA) (pp. 179).
Parma, Italy.
- EUFIC. (2006). Functional Foods. Retrieved from
<http://www.eufic.org/article/en/expid/basics-functional-foods/>
- EUFIC. (2013). Valores Diários de Referência – uma referência para quem?
<http://www.eufic.org/article/pt/artid/Dietary-Reference-Values-reference-for-whom/>.
- Figura, L., & Teixeira, A. A. (2007). *Food Physics: Physical Properties - Measurement and Applications*: Springer Berlin Heidelberg.
- FoodDB. (2016). Wheat grain. <http://foodb.ca/reports/wheat>.
- Gallagher, D., & Chung, S. (2005a). Body Composition. In B. CABALLERO & L. P. Allen, A (Eds.), *Encyclopedia of Human Nutrition* (2nd ed., pp. 2167): Elsevier - Academic Press.
- Gallagher, E., Gormley, T. R., & Arendt, E. K. (2003). Crust and crumb characteristics of gluten free breads. *Journal of Food Engineering*, 56(2-3), 153-161. doi:10.1016/s0260-8774(02)00244-3
- Gallagher, E., Kenny, S., & Arendt, E. K. (2005b). Impact of dairy protein powders on biscuit quality. *European Food Research and Technology*, 221(3-4), 237-243. doi:10.1007/s00217-005-1140-5
- Gani, A., Broadway, A. A., Ahmad, M., Ashwar, B. A., Wani, A. A., Wani, S. M., et al. (2015). Effect of whey and casein protein hydrolysates on rheological, textural and sensory properties of cookies. *Journal of Food Science and Technology-Mysore*, 52(9), 5718-5726. doi:10.1007/s13197-014-1649-3
- Gennari, C. (2001). Calcium and vitamin D nutrition and bone disease of the elderly. *Public Health Nutrition*, 4(2B), 547-559.

- Ghotra, B. S., Dyal, S. D., & Narine, S. S. (2002). Lipid shortenings: a review. *Food Research International*, 35(10), 1015-1048. doi:10.1016/s0963-9969(02)00163-1
- Giacalone, D., Wendin, K., Kremer, S., Frost, M. B., Bredie, W. L. P., Olsson, V., et al. (2016). Health and quality of life in an aging population - Food and beyond. *Food Quality and Preference*, 47, 166-170. doi:10.1016/j.foodqual.2014.12.002
- Gonnelli, S., Campagna, M. S., Montagnani, A., Caffarelli, C., Cadirni, A., Giorgi, G., et al. (2007). Calcium bioavailability from a new calcium-fortified orange beverage, compared with milk, in healthy volunteers. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research*, 77(4), 249-254. doi:10.1024/0300-9831.77.4.249
- Greenacre, M. J. (1984). *Theory and Applications of Correspondence Analysis*. London: Academic Press.
- Hilliam, M. (1996). Functional foods: The western consumer viewpoint. *Nutrition Reviews*, 54(11), S189-S194.
- Holick, M. F. (2005). Vitamin D: Physiology, Dietary Sources and Requirements. In B. Caballero, L. Allen, & A. Prentice (Eds.), *Encyclopedia of Human Nutrition* (2nd ed.): Elsevier Academic Press.
- Hoseney, R. C. (1998). *Principles of Cereal - Science and Technology* (2nd ed.): American Association of Cereal Chemists.
- IFIC. (2013). Functional Foods Consumer Survey. http://www.foodinsight.org/2013_Functional_Foods_Consumer_Survey: International Food Information Council Foundation.
- INE. (2015). *Envelhecimento da população residente em Portugal e na União Europeia*. Retrieved from https://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_destaques&DESTAQUESdest_boui=224679354&DESTAQUESmodo=2:

INSA. (2016). Tabela da Composição de Alimentos (TCA). <http://portfir.insa.pt/>.

ISO. (2006). ISO 8587 *Sensory analysis - Methodology - Ranking*: International Organization for Standardization.

Jones, D. B. (1941). *Factors for converting percentages of nitrogen in foods and feeds into percentages of proteins [electronic resource] / by D. Breese Jones*. Washington, D.C: U.S. Dept. of Agriculture.

Joy, J. M., Lowery, R. P., Wilson, J. M., Purpura, M., De Souza, E. O., Wilson, S. M. C., *et al.* (2013). The effects of 8 weeks of whey or rice protein supplementation on body composition and exercise performance. *Nutrition Journal*, 12, 7. doi:10.1186/1475-2891-12-86

Kim, I.-Y., Schutzler, S., Schrader, A., Spencer, H., Kortebein, P., Deutz, N. E. P., *et al.* (2015). Quantity of dietary protein intake, but not pattern of intake, affects net protein balance primarily through differences in protein synthesis in older adults. *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism*, 308(1), E21-E28. doi:10.1152/ajpendo.00382.2014

Kumar, K. A., Sharma, G. K., Khan, M. A., Govindaraj, T., & Semwal, A. D. (2015). Development of multigrain premixes-its effect on rheological, textural and micro-structural characteristics of dough and quality of biscuits. *Journal of Food Science and Technology-Mysore*, 52(12), 7759-7770. doi:10.1007/s13197-015-1950-9

Laguna, L., Salvador, A., Sanz, T., & Fiszman, S. M. (2011). Performance of a resistant starch rich ingredient in the baking and eating quality of short-dough biscuits. *Lwt-Food Science and Technology*, 44(3), 737-746. doi:10.1016/j.lwt.2010.05.034

Lai, H. M., & Lin, T. C. (2007). Bakery Products: Science and Technology *Bakery Products* (pp. 3-68): Blackwell Publishing.

Linder, T. M., A E (2016). Calcium Homeostasis. <https://courses.washington.edu/conj/bess/calcium/calcium.html>.

- Liutkevicius, A., Speiciene, V., Kaminskas, A., Jablonskiene, V., Alencikiene, G., Miezeleiene, A., *et al.* (2016). Development of a functional whey beverage, containing calcium, vitamin D, and prebiotic dietary fiber, and its influence on human health. *Cyta-Journal of Food*, 14(2), 309-316. doi:10.1080/19476337.2015.1108366
- Maache-Rezzoug, Z., Bouvier, J. M., Allaf, K., & Patras, C. (1998). Effect of principal ingredients on rheological behaviour of biscuit dough and on quality of biscuits. *Journal of Food Engineering*, 35(1), 23-42. doi:10.1016/s0260-8774(98)00017-x
- Madeira, T., Peixoto-Placido, C., Goulao, B., Mendonca, N., Alarcao, V., Santos, N., *et al.* (2016). National survey of the Portuguese elderly nutritional status: study protocol. *BMC Geriatrics*, 16, 9. doi:10.1186/s12877-016-0299-x
- Mamat, H., Abu Hardan, M. O., & Hill, S. E. (2010). Physicochemical properties of commercial semi-sweet biscuit. *Food Chemistry*, 121(4), 1029-1038. doi:10.1016/j.foodchem.2010.01.043
- Mancebo, C. M., Picon, J., & Gomez, M. (2015). Effect of flour properties on the quality characteristics of gluten free sugar-snap cookies. *Lwt-Food Science and Technology*, 64(1), 264-269. doi:10.1016/j.lwt.2015.05.057
- Mancebo, C. M., Rodriguez, P., & Gómez, M. (2016). Assessing rice flour-starch-protein mixtures to produce gluten free sugar-snap cookies. *LWT - Food Science and Technology*, 67, 127-132. doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2015.11.045
- Manley, D. (1998a). Manual 1 - Ingredients. In D. Manley (Ed.), *Biscuit, cookie and cracker manufacturing manuals* (1st ed.). Cambridge England: Woodhead Publishing Limited.
- Manley, D. (1998b). Manual 2 - Biscuit doughs. In D. Manley (Ed.), *Biscuit, cookie and cracker manufacturing manuals* (1st ed.). Cambridge England: Woodhead Publishing Limited.

- Manley, D. (2000a). 8 Wheat flour and vital wheat gluten. *Technology of Biscuits, Crackers and Cookies* (3^a ed., pp. 23). Boca Raton: CRC Press LLC.
- Manley, D. (2000b). 10 Sugars and syrups. *Technology of Biscuits, Crackers and Cookies* (3^a ed., pp. 18). Boca Raton: CRC Press LLC.
- Manley, D. (2000c). 11 Fats and oils. *Technology of Biscuits, Crackers and Cookies* (3^a ed., pp. 21). Boca Raton: CRC Press LLC.
- Manley, D. (2000d). 17 Additives. *Technology of Biscuits, Crackers and Cookies* (3^a ed., pp. 12). Boca Raton: CRC Press LLC.
- Manley, D. (2000e). 20 Classification of biscuits. *Technology of Biscuits, Crackers and Cookies* (3^a ed., Vol. Part III, pp. 8). Boca Raton: CRC Press LLC.
- Manley, D. (2000f). 27 Short dough biscuits. *Technology of Biscuits, Crackers and Cookies* (3^a ed., pp. 11). Boca Raton: CRC Press LLC.
- Marques, G. D., Jose, J., Silva, D. A., & da Silva, E. M. M. (2016). Whey protein as a substitute for wheat in the development of no added sugar cookies. *Lwt-Food Science and Technology*, 67, 118-126. doi:10.1016/j.lwt.2015.11.044
- Martins, F., Pinho, O., & Ferreira, I. (2004). Alimentos funcionais: conceitos, definições, aplicações e legislação. *Alimentação Humana*, 10(2), 12.
- Medicine, I. o. (2011). *Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D*. Washington, DC: The National Academies Press.
- Meilgaard, M., Civille, G. V., & Carr, B. T. (1999a). Affective Tests: Consumer Tests and In-House Panel Acceptance Tests *Sensory Evaluation Techniques* (3rd ed.): CRC Press.
- Meilgaard, M., Civille, G. V., & Carr, B. T. (1999b). *Sensory Evaluation Techniques* (3rd ed.). Boca Raton: CRC Press.
- Menrad, K. (2003). Market and marketing of functional food in Europe. *Journal of Food Engineering*, 56(2-3), 181-188. doi:10.1016/S0260-8774(02)00247-9

- Mestdagh, F., De Wilde, T., Delporte, K., Van Peteghem, C., & De Meulenaer, B. (2008). Impact of chemical pre-treatments on the acrylamide formation and sensorial quality of potato crisps. *Food Chemistry*, 106(3), 914-922. doi:10.1016/j.foodchem.2007.07.001
- Mieszkowska, A., & Marzec, A. (2015). Structure Analysis of Short-Dough Biscuits and Its Correlation with Sensory Discriminants. *Journal of Texture Studies*, 46(5), 313-320. doi:10.1111/jtxs.12130
- Miller, R. A., & Hosney, R. C. (1997). Factors in hard wheat flour responsible for reduced cookie spread. *Cereal Chemistry*, 74(3), 330-336. doi:10.1094/cchem.1997.74.3.330
- Mitchell, C. J., Della Gatta, P. A., Petersen, A. C., Cameron-Smith, D., & Markworth, J. F. (2015). Soy protein ingestion results in less prolonged p70S6 kinase phosphorylation compared to whey protein after resistance exercise in older men. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, 12, 4. doi:10.1186/s12970-015-0070-2
- Nammakuna, N., Barringer, S. A., & Ratanatriwong, P. (2016). The effects of protein isolates and hydrocolloids complexes on dough rheology, physicochemical properties and qualities of gluten-free crackers. *Food Science & Nutrition*, 4(2), 143-155. doi:10.1002/fsn3.266
- Nordin, B. E. C. (1997). Calcium and osteoporosis. *Nutrition*, 13(7-8), 664-686. doi:10.1016/s0899-9007(97)83011-0
- O'Brien, C. M., Chapman, D., Neville, D. P., Keogh, M. K., & Arendt, E. K. (2003). Effect of varying the microencapsulation process on the functionality of hydrogenated vegetable fat in shortdough biscuits. *Food Research International*, 36(3), 215-221. doi:10.1016/s0963-9969(02)00139-4
- Palazoglu, T. K., Coskun, Y., Tuta, S., Mogol, B. A., & Gokmen, V. (2015). Effect of vacuum-combined baking of cookies on acrylamide content, texture and

- color. *European Food Research and Technology*, 240(1), 243-249. doi:10.1007/s00217-014-2324-7
- Pareyt, B., & Delcour, J. A. (2008). The role of wheat flour constituents, sugar, and fat in low moisture cereal based products: A review on sugar-snap cookies. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 48(9), 824-839. doi:10.1080/10408390701719223
- PEN-3S. (2016). O Projeto PEN-3S. Retrieved from <http://pen3s.uepid.org/pt/bem-vindo/>
- Peryam, D. R., & Pilgrim, F. J. (1957). Hedonic scale method of measuring food preferences. *Food Technology*, 9-14.
- PORDATA. (2016). Índice de envelhecimento. <http://www.pordata.pt/Glossario:PORDATA-Base-de-Dados-Portugal-Contemporaneo>.
- Poulsen, J. (1999). *Danish consumers' attitudes towards functional foods* (62). Retrieved from Aarhus, Denmark:
- Prentice, A. (2004). Diet, nutrition and the prevention of osteoporosis. *Public Health Nutrition*, 7(1A), 227-243. doi:10.1079/phn2003590
- Rafferty, K., Walters, G., & Heaney, R. P. (2007). Calcium fortificants: Overview and strategies for improving calcium nutriture of the US population. *Journal of Food Science*, 72(9), R152-R158. doi:10.1111/j.1750-3841.2007.00521.x
- Regulamento (CE) Nº 1924/2006 do Parlamento Europeu e do Conselho de 20 de Dezembro de 2006, Jornal Oficial L 404 de 30.12.2006 C.F.R. (2006).
- Regulamento (CE) Nº 1925/2006 do Parlamento Europeu e do Conselho de 20 de Dezembro de 2006, Jornal Oficial L 404 de 30.12.2006 C.F.R. (2006).
- Russell, L. F., Sanford, K. A., Gaul, S. O., Haskett, J., Johnston, E. M., McRae, K. B., et al. (2010). Effect of calcium salts on fortified apple juice. *British Food Journal*, 112(6-7), 751-762. doi:10.1108/00070701011058271

- Sahin, S., & Sumnu, S. G. (2006). Water Activity and Sorption Properties of Foods *Physical Properties of Foods* (pp. 193-228). New York, NY: Springer New York.
- Siró, I., Kápolna, E., Kápolna, B., & Lugasi, A. (2008). Functional food. Product development, marketing and consumer acceptance-A review. *Appetite*, 51(3), 456-467. doi:10.1016/j.appet.2008.05.060
- Sivakumar, P. S., Panda, S. H., Ray, R. C., Naskar, S. K., & Bharathi, L. K. (2010). Consumer Acceptance of Lactic Acid-Fermented Sweet Potato Pickle. *Journal of Sensory Studies*, 25(5), 706-719. doi:10.1111/j.1745-459X.2010.00299.x
- Souza, E., Kruk, M., & Sunderman, D. W. (1994). Association of sugar-snap cookie quality with high-molecular-weight glutenin alleles in soft white spring wheats. *Cereal Chemistry*, 71(6), 601-605.
- Stein, L. (2011). How Sweet It Is: Why Your Taste Cells Love Sugar So Much. Retrieved from http://www.monell.org/news/news_releases/sweet_receptors
- Steptoe, A., Pollard, T. M., & Wardle, J. (1995). DEVELOPMENT OF A MEASURE OF THE MOTIVES UNDERLYING THE SELECTION OF FOOD - THE FOOD CHOICE QUESTIONNAIRE. *Appetite*, 25(3), 267-284. doi:10.1006/appe.1995.0061
- Stewart-Knox, B. J., Vaz De Almeida, M. D., Parr, H., Pinhão, S., Bunting, B., & Gibney, M. (2007). Consumer uptake of functional foods in Europe. *International developments in science & health claims*. ILSI international symposium on functional foods in Europe.
- Stone, H., & Sidel, J. L. (2004). *Sensory Evaluation Practices*: Elsevier Academic Press.
- Tieland, M., van de Rest, O., Dirks, M. L., van der Zwaluw, N., Mensink, M., van Loon, L. J., et al. (2012). Protein supplementation improves physical performance in frail elderly people: a randomized, double-blind, placebo-

- controlled trial. *Journal of the American Medical Directors Association*, 13(8), 720-726. doi:10.1016/j.jamda.2012.07.005
- van der Zanden, L. D. T., van Kleef, E., de Wijk, R. A., & van Trijp, H. C. M. (2014). Knowledge, perceptions and preferences of elderly regarding protein-enriched functional food. *Appetite*, 80, 16-22. doi:10.1016/j.appet.2014.04.025
- Verbeke, W. (2006). Functional foods: Consumer willingness to compromise on taste for health? *Food Quality and Preference*, 17(1-2), 126-131. doi:10.1016/j.foodqual.2005.03.003
- WHO. (2004). Vitamin and mineral requirements in human nutrition. *Reports of a joint FAO/WHO expert consultation*. Hong kong, China: World Health Organization.
- WHO/FAO. (2006). Guidelines on Food Fortification with Micronutrients. In L. Allen, B. Benoist, O. Dary, & R. Hurrell (Eds.), (pp. 37). Geneva, Switzerland: World Health Organization and Food and Agricultural Organization of The United Nations.
- Winter, J., Flanagan, D., McNaughton, S. A., & Nowson, C. (2013). Nutrition screening of older people in a community general practice, using the MNA-SF. *Journal of Nutrition Health & Aging*, 17(4), 322-325. doi:10.1007/s12603-013-0020-0
- Ziadeh, G., Shadarevian, S., Malek, A., Khalil, J., Haddad, T., Haddad, J., et al. (2005). Determination of sensory thresholds of selected calcium salts and formulation of calcium-fortified pocket-type flat bread. *Journal of Food Science*, 70(8), S548-S552.

7 APÊNDICES

7.1 APÊNDICE I – CÁLCULOS DAS QUANTIDADES DE NUTRIENTES A ADICIONAR

Os cálculos realizados para definir a quantidade de cada nutriente a adicionar encontram-se descritos abaixo.

7.1.1 PROTEÍNA

Para o cálculo da quantidade de proteína a adicionar, é necessário saber o valor energético do alimento. Deste modo, criou-se uma tabela nutricional teórica usando a base de dados de composição dos alimentos do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA, 2016).

A tabela nutricional teórica da formulação base encontra-se na Tabela XI.

Tabela XI – Informação nutricional da formulação base.

	Por 100 g
Energia	372 kcal
	1556 kJ
Lípidos	17 g
dos quais	
Ácidos gordos saturados	8 g
Ácidos gordos monoinsaturados	6 g
Ácidos gordos polinsaturados	2 g
Hidratos de Carbono	47 g
dos quais	
Açúcares	3 g
Amido	0 g
Oligossacáridos	0 g
Fibra	2 g
Proteínas	6 g
Vitaminas	
Vitamina A	1 mg
Caroteno	4978 µg
Vitamina D	0 µg
Sais minerais	
Na	222 mg
Ca	0 mg
Mg	2 mg

- “FONTE DE PROTEÍNA” – 12% DO VALOR ENERGÉTICO

$$\frac{0,12 \times 372 \text{ kcal}}{100 \text{ g}} = \frac{44,64 \text{ kcal}}{100 \text{ g}}$$

- “ALTO TEOR EM PROTEÍNA” – 20% DO VALOR ENERGÉTICO

$$\frac{0,20 \times 372 \text{ kcal}}{100 \text{ g}} = \frac{74,40 \text{ kcal}}{100 \text{ g}}$$

No Regulamento (UE) nº 1169/2011, no Anexo XIV é possível consultar os fatores de conversão para o cálculo do valor energético. No caso da proteína, o fator de conversão é 4 kcal/g.

Então,

- “FONTE DE” – 12% DO VALOR ENERGÉTICO

$$x \text{ g proteína bruta a adicionar} = \frac{1 \text{ g proteína} \times 44,64 \text{ kcal}}{4 \text{ kcal}} = 11,16 \text{ g}$$

Equação 1

As proteínas usadas não são 100% puras, pelo que a sua % pureza tem de ser considerada para os cálculos. As fichas técnicas das proteínas encontram-se no Anexo I.

A quantidade de preparado de proteína a adicionar é dada pela fórmula seguinte:

$$x \text{ g prep. prot. a adicionar} = \frac{1 \text{ g preparado proteína} \times 11,16 \text{ g proteína bruta}}{y \text{ g de proteína bruta do preparado}}$$

Equação 2

- Isolado de ervilha (y=88%) – **12,68 g**
- “ALTO TEOR EM” – 20% DO VALOR ENERGÉTICO

$$x \text{ g proteína bruta a adicionar} = \frac{1 \text{ g proteína} \times 74,40 \text{ kcal}}{4 \text{ kcal}} = 18,60 \text{ g}$$

Equação 3

Tendo em consideração a % pureza das proteínas,

$$x \text{ g prep. prot. a adicionar} = \frac{1 \text{ g preparado proteína} \times 18,60 \text{ g proteína bruta}}{y \text{ g de proteína bruta do preparado}}$$

Equação 4

- Proteína de soro do leite (y=93%) – **20,00 g**
- Proteína de arroz (y=79%) – **23,54 g**
- Isolado de ervilha (y=88%) – **21,14 g**

7.1.2 CÁLCIO

O cálcio usado foi em forma de lactato de cálcio e apenas foi adicionado na fase II do presente trabalho. Deste modo, à semelhança da proteína, este foi adicionado em duas quantidades diferentes, “fonte de” e “alto teor em”.

- “FONTE DE” – 15% VALOR DE REFERÊNCIA DO NUTRIENTE (VRN)

$VRN_{\text{cálcio}} = 800 \text{ mg}$

$$15\% VRN = 0,15 \times 800 \text{ mg} = 120 \text{ mg}$$

O lactato de cálcio usado não era 100% puro, pelo que a sua % pureza tem de ser considerada para os cálculos.

A ficha técnica encontra-se no Anexo I.

A quantidade de preparado de cálcio a adicionar é dada pela fórmula seguinte:

$$x \text{ g prep. cálcio a adicionar} = \frac{1 \text{ g preparado cálcio} \times 120 \text{ mg cálcio bruto}}{0,131 \text{ g de cálcio bruto do preparado}}$$

Equação 5

- Lactato de cálcio (13,1%) – 916,0 mg = **0,9160 g**

- “ALTO TEOR EM” – 2x15% VRN

$$15\% VRN = 2 \times 0,15 \times 800 \text{ mg} = 240 \text{ mg}$$

$$x \text{ g prep. cálcio a adicionar} = \frac{1 \text{ g preparado cálcio} \times 240 \text{ mg cálcio bruto}}{0,131 \text{ g de cálcio bruto do preparado}}$$

Equação 6

- Lactato de cálcio (13,1%) – 1832,1 mg = **1,8321 g**

7.1.3 VITAMINA D

À semelhança do cálcio, com o intuito de alegar “fonte de” e “alto teor em vitamina D”, adicionou-se vitamina D em duas concentrações diferentes. Esta apenas foi adicionada na fase II.

- “FONTE DE” – 15% VRN

$VRN_{\text{vitamina D}} = 5 \mu g$

$$15\% VRN = 0,15 \times 5 \mu g = 0,75 \mu g$$

Considerou-se que o preparado de vitamina D era 100% vitamina D. A ficha técnica encontra-se no Anexo I. Apesar do preparado ser 100% puro, as quantidades de vitamina D a adicionar são muito pequenas pelo que não é possível pesar numa balança analítica. Deste modo, foi necessário preparar uma solução em óleo.

- “ALTO TEOR EM” – 2x15% VRN

$$15\% VRN = 2 \times 0,15 \times 5 \mu g = 1,5 \mu g$$

7.2 APÊNDICE II – RESULTADOS MÉDIOS DOS PARÂMETROS ANALÍTICOS

Na Tabela XII e Tabela XIII é possível consultar os valores médios dos resultados obtidos dos parâmetros analíticos da fase I e fase II, respectivamente.

Tabela XII – Valores médios dos resultados obtidos nos parâmetros analíticos analisados nas bolachas da fase I.

Análises	Formulações			
	C	PSL	PA	PE
a_w	$0,55^a \pm 0,01$	$0,68^b \pm 0,02$	$0,66^b \pm 0,02$	$0,60^{ab} \pm 0,07$
% Humidade	$5,20^a \pm 0,09$	$5,58^a \pm 0,11$	$4,59^b \pm 0,18$	$3,57^c \pm 0,22$
% Cinzas	$0,77^a \pm 0,03$	$1,45^b \pm 0,17$	$0,86^a \pm 0,01$	$1,45^b \pm 0,01$
% Proteína	$5,78^a \pm 0,16$	$17,16^b \pm 0,64$	$17,86^b \pm 0,14$	$17,12^b \pm 0,83$
L	$77,16^a \pm 0,94$	$73,07^b \pm 1,02$	$71,53^c \pm 1,12$	$70,02^d \pm 0,99$
L*/b*	$3,59^a \pm 0,23$	$2,20^b \pm 0,07$	$3,18^c \pm 0,09$	$2,62^d \pm 0,14$
Dureza (N)	$23,42^a \pm 5,17$	$27,99^a \pm 7,76$	$7,30^b \pm 4,98$	$16,29^c \pm 4,18$

Valores médios na mesma linha que não são seguidos pela mesma letra são estatisticamente diferentes ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Tabela XIII – Resultados obtidos nos parâmetros analíticos analisados nas bolachas da fase II.

Análises	Formulações								
	C	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8
a _w	0,55 ^a ± 0,01	0,52 ^b ± 0,00	0,54 ^a ± 0,01	0,48 ^c ± 0,01	0,64 ^d ± 0,01	0,51 ^b ± 0,01	0,55 ^a ± 0,00	0,47 ^c ± 0,00	0,57 ^e ± 0,01
% Humidade	5,20 ^a ± 0,09	6,38 ^{ab} ± 0,03	7,61 ^{bc} ± 0,91	5,30 ^a ± 0,07	8,89 ^c ± 0,82	7,59 ^{bc} ± 0,46	7,60 ^{bc} ± 0,12	6,27 ^a ± 0,04	8,70 ^{bc} ± 0,11
% Cinzas	0,77 ^a ± 0,03	1,51 ^b ± 0,01	1,79 ^c ± 0,02	1,81 ^c ± 0,01	2,02 ^d ± 0,02	1,58 ^b ± 0,14	1,81 ^c ± 0,01	1,82 ^c ± 0,02	2,10 ^d ± 0,02
% Proteína	5,78 ^a ± 0,16	15,12 ^b ± 0,44	20,29 ^c ± 0,38	14,93 ^b ± 0,23	20,14 ^c ± 0,18	14,54 ^b ± 0,36	19,63 ^c ± 0,13	14,56 ^b ± 0,40	20,22 ^c ± 0,26
Cálcio (mg/100 g)	2,70 ^a ± 0,26	173,15 ^b ± 5,88	212,81 ^c ± 7,20	317,64 ^d ± 4,31	337,80 ^d ± 9,82	178,92 ^{bc} ± 6,53	201,29 ^{bc} ± 2,09	323,82 ^d ± 3,73	339,15 ^d ± 26,65
Vitamina D - (µg/100 g)	0,6	0,6	0,6	3,0	1,0	2,5	2,1	1,7	1,5
L*	77,16 ^a ± 0,94	69,23 ^b ± 1,21	70,51 ^c ± 0,82	69,06 ^b ± 0,74	68,73 ^b ± 0,75	70,37 ^{bc} ± 0,70	69,75 ^{bc} ± 0,68	69,99 ^{bc} ± 0,65	69,12 ^b ± 0,73
L*/b*	3,59 ^a ± 0,23	2,77 ^b ± 0,11	2,92 ^{bc} ± 0,14	2,69 ^b ± 0,13	2,99 ^c ± 0,19	2,81 ^{bc} ± 0,12	2,81 ^{bc} ± 0,09	2,80 ^{bc} ± 0,05	2,85 ^{bc} ± 0,13
Dureza (N)	23,42 ^a ± 5,17	14,24 ^b ± 1,81	12,48 ^{bc} ± 1,98	15,34 ^b ± 3,05	8,44 ^d ± 1,41	11,16 ^{bd} ± 2,53	10,40 ^{cd} ± 1,20	16,20 ^b ± 2,28	9,98 ^{cd} ± 1,86

Valores médios na mesma linha que não são seguidos pela mesma letra são estatisticamente diferentes ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

7.3 APÊNDICE III – FICHA DE PROVA DA ADQ

Provador: _____

Data: ____/____/____

Produto: _____

Código: _____

Senhor(a) provador(a), por favor, avalie primeiro o aspeto geral do produto, depois o seu cheiro, textura e por fim, o sabor, seguindo a lista como apresentado:

APARÊNCIA

Rugosidade da superfície

Fina

1	2	3	4	5	6	7	8	9
---	---	---	---	---	---	---	---	---

Grossa

TEXTURA (MÃO)

Dureza ao partir a bolacha

Fácil de partir

1	2	3	4	5	6	7	8	9
---	---	---	---	---	---	---	---	---

Difícil de partir

Friabilidade

Pouco (íntegra)

1	2	3	4	5	6	7	8	9
---	---	---	---	---	---	---	---	---

Muito (desfaz)

SABOR E TEXTURA NA BOCA

Crocância

Mole

1	2	3	4	5	6	7	8	9
---	---	---	---	---	---	---	---	---

Estaladiça

Dureza

Pouco

1	2	3	4	5	6	7	8	9
---	---	---	---	---	---	---	---	---

Muito

Sabor residual (persistência do sabor na boca)

Pouco

1	2	3	4	5	6	7	8	9
---	---	---	---	---	---	---	---	---

Muito

Sabor diferente?

Qual? (vegetal, leguminosa, arroz, cereal, farinha)

Sim ☐ Não ☐

Pouco intenso

1	2	3	4	5	6	7	8	9
---	---	---	---	---	---	---	---	---

Muito intenso

7.4 APÊNDICE IV – INQUÉRITO E PROVA DAS BOLACHAS PSL, PA E PE

FICHA DE PROVA – TESTE DE CONSUMIDORES

Bolachas Funcionais

O objetivo deste teste de consumidores é recolher informação importante acerca da aceitabilidade de um novo produto desenvolvido no âmbito de uma dissertação do Mestrado de Empreendedorismo e Inovação na Indústria Alimentar.

Preencha por favor, as questões abaixo apresentadas.

Agradeço desde já a sua colaboração.

As questões com * são de resposta obrigatória.

A – Informação demográfica e socioeconómica

1. Sexo*

☐ Feminino

☐ Masculino

2. Idade (em anos)*

☐ Menos de 18

☐ 36 – 45

☐ 66 – 75

☐ 18 – 25

☐ 46 – 55

☐ Mais de 75

☐ 26 – 35

☐ 56 – 65

3. Distrito*

☐ Aveiro

☐ Faro

☐ Setúbal

☐ Beja

☐ Guarda

☐ Viana do Castelo

☐ Braga

☐ Leiria

☐ Vila Real

☐ Bragança

☐ Lisboa

☐ Viseu

☐ Castelo Branco

☐ Portalegre

☐ Ilhas

☐ Coimbra

☐ Porto

☐ Évora

☐ Santarém

4. Situação profissional*

- ☐ Empregado a tempo integral
- ☐ Empregado a tempo parcial
- ☐ Desempregado
- ☐ Doméstico
- ☐ Estudante
- ☐ Reformado

B – Padrão de Consumo**5. Costuma consumir bolachas?***

- ☐ Sim ☐ Não

6. Indique a frequência com que costuma consumir bolachas.

- ☐ Todos os dias da semana
- ☐ Mais do que uma vez por semana
- ☐ Uma vez por semana
- ☐ Uma vez por mês
- ☐ Raramente

7. Que tipo de bolachas costuma consumir? (selecionar vários)

- ☐ Bolachas de água e sal/Cream cracker
- ☐ Bolachas Integrais
- ☐ Bolachas de Cereais (aveia...)
- ☐ Bolachas enriquecidas
- ☐ Bolachas recheadas (chocolate...)
- ☐ Cookies
- ☐ Outras. Quais? _____

D – Teste de aceitabilidade

8. À sua frente tem 3 amostras codificadas. Avalie globalmente cada uma, utilizando a escala abaixo.

8.1 Amostra 542

- ☐ Extremamente agradável
- ☐ Muito agradável
- ☐ Agradável
- ☐ Ligeiramente agradável
- ☐ Indiferente
- ☐ Ligeiramente desagradável
- ☐ Desagradável
- ☐ Muito desagradável
- ☐ Extremamente desagradável

8.2 Amostra 896

- ☐ Extremamente agradável
- ☐ Muito agradável
- ☐ Agradável
- ☐ Ligeiramente agradável
- ☐ Indiferente
- ☐ Ligeiramente desagradável
- ☐ Desagradável
- ☐ Muito desagradável
- ☐ Extremamente desagradável

8.3 Amostra 323

- ☐ Extremamente agradável
- ☐ Muito agradável
- ☐ Agradável
- ☐ Ligeiramente agradável
- ☐ Indiferente
- ☐ Ligeiramente desagradável
- ☐ Desagradável
- ☐ Muito desagradável
- ☐ Extremamente desagradável

Obrigada pela participação 😊

7.5 APÊNDICE V – TESTE COM CONSUMIDORES – ACEITABILIDADE DE BOLACHAS ENRIQUECIDAS COM PROTEÍNA DE ERVILHA, CÁLCIO E VITAMINA D

TESTE COM CONSUMIDORES Aceitabilidade de Bolachas Funcionais

O objetivo deste teste de consumidores é recolher informação importante acerca da aceitabilidade de um novo produto desenvolvido no âmbito de uma dissertação do Mestrado de Empreendedorismo e Inovação na Indústria Alimentar, realizada no Instituto Politécnico de Viana do Castelo.

Preencha por favor, as questões abaixo apresentadas. Não existem respostas certas ou erradas, por isso solicito que responda de forma espontânea e sincera a todas as questões. Este inquérito é crucial para o desenvolvimento de um novo produto.

Informo também que o inquérito é anónimo.

As questões com * são de resposta obrigatória.

Agradeço desde já a sua colaboração.

Catarina Vieito

Secção A – Informação demográfica e socioeconómica*

As respostas nesta secção servem só e apenas para caracterização da amostra/população que respondeu ao inquérito.

1. Sexo*

☐ Feminino

☐ Masculino

2. Idade (em anos)*

☐ Menos de 18

☐ 36 – 45

☐ 66 – 75

☐ 18 – 25

☐ 46 – 55

☐ Mais de 75

☐ 26 – 35

☐ 56 – 65

3. Distrito*

☐ Aveiro

☐ Faro

☐ Setúbal

☐ Beja

☐ Guarda

☐ Viana do Castelo

☐ Braga

☐ Leiria

☐ Vila Real

☐ Bragança

☐ Lisboa

☐ Viseu

☐ Castelo Branco

☐ Portalegre

☐ Ilhas

☐ Coimbra

☐ Porto

☐ Évora

☐ Santarém

4. Habilitações literárias*

- ☐ 6º ano
- ☐ 9º ano
- ☐ 12º ano
- ☐ Curso superior
- ☐ Mestrado
- ☐ Doutoramento

5. Situação profissional*

- ☐ Empregado a tempo integral
- ☐ Empregado a tempo parcial
- ☐ Desempregado
- ☐ Doméstico
- ☐ Estudante
- ☐ Reformado

6. Composição do agregado familiar*: _____ (nº)**7. Rendimento mensal do agregado familiar***

- ☐ Totalmente insuficiente
- ☐ Apenas consegue satisfazer as necessidades básicas
- ☐ Consegue satisfazer algumas necessidades, mas não todas
- ☐ Consegue satisfazer todas as necessidades
- ☐ Consegue satisfazer todas as necessidades e ainda sobra

Secção B – Perfil do Consumidor**8. De um modo geral, como classifica a sua saúde?***

Pobre 1 2 3 4 5 Excelente

☐ ☐ ☐ ☐ ☐

9. Qual a sua opinião acerca de alimentos que alegam melhorar a saúde? (Por exemplo “O cálcio é necessário para a manutenção de ossos normais”)*

- ☐ Reconheço que podem melhorar
- ☐ Reconheço que apenas podem contribuir para a melhoria
- ☐ Tenho algumas dúvidas
- ☐ Não acredito

10. Na compra dos seus alimentos, seleciona-os por apresentarem alegações nutricionais?*

Por exemplo "enriquecido com cálcio".

☐ Sim ☐ Não

11. Costuma consumir alimentos funcionais?*

Um alimento funcional é aquele que, para além da função de nutrição básica, tem atributos adicionais com um efeito positivo direto na saúde e bem-estar. Os alimentos que apresentem alegações como por exemplo, "enriquecido com cálcio" ou "o cálcio é essencial para a manutenção de ossos normais" são alimentos funcionais. Na imagem abaixo encontram-se alguns exemplos de alimentos funcionais.

☐ Sim Avance para a questão 12.

☐ Não Avance para a questão 16.

Exemplos de Alimentos Funcionais



12. Com que frequência consome alimentos funcionais? (dependentes da resposta positiva na questão 12)

- ☐ Todas as vezes que como
- ☐ A maior parte das vezes
- ☐ Às vezes
- ☐ Raramente
- ☐ Nunca
- ☐ Não sei

13. Em que momentos do dia é que consome alimentos funcionais? (selecionar vários)
(dependentes da resposta positiva na questão 12)

- ☐ Pequeno-almoço
- ☐ Lanche da tarde
- ☐ Lanche da manhã
- ☐ Jantar
- ☐ Almoço
- ☐ Ceia

14. Na sua opinião, quanto é que acha que a fortificação dos alimentos altera o seu sabor? (dependentes da resposta positiva na questão 12)

- ☐ Muito
- ☐ Uma quantidade razoável
- ☐ Ligeiramente
- ☐ Nada
- ☐ Não sei

15. Na sua opinião, qual a vantagem em consumir alimentos funcionais em comparação com alimentos regulares? (dependentes da resposta positiva na questão 12)

- ☐ Sempre mais vantajoso do que consumir alimentos não enriquecidos
- ☐ Mais vantajoso na maioria das vezes
- ☐ É igual na maioria das vezes
- ☐ Geralmente, menos vantajoso
- ☐ Sempre menos vantajoso do que consumir alimentos enriquecidos
- ☐ Não sei

16. Quanto lhe agrada a ideia de consumir alimentos que declaram benefícios para a saúde?*

- ☐ Agrada-me extremamente
- ☐ Agrada-me
- ☐ Indiferente
- ☐ Desagrada-me
- ☐ Desagrada-me extremamente

Secção C – Padrão de Consumo

17. Costuma consumir bolachas?*

- ☐ Sim Avance para a questão 18.
- ☐ Não Avance para a questão 21.

18. Indique, por favor, a frequência com que costuma consumir bolachas. (dependente da resposta positiva na questão 17)

- ☐ Todos os dias da semana
- ☐ Mais do que uma vez por semana
- ☐ Uma vez por semana
- ☐ Uma vez por mês
- ☐ Raramente

19. Que tipo de bolachas costuma consumir? (selecionar vários) (dependente da resposta positiva na questão 17)

- ☐ Bolachas de água e sal/*Cream cracker*
- ☐ Bolachas Integrais
- ☐ Bolachas de Cereais (aveia...)
- ☐ Bolachas enriquecidas (com ferro, cálcio...)
- ☐ Bolachas recheadas (chocolate...)
- ☐ *Cookies*
- ☐ Outras

20. O que considera mais importante numa bolacha? (selecionar vários) (dependente da resposta positiva na questão 17)

- ☐ Aspeto
- ☐ Crocância
- ☐ Sabor
- ☐ Ser um *snack* saciador
- ☐ Prazer doce

21. Interesse em consumir uma bolacha enriquecida com proteína, cálcio e vitamina D.*

- ☐ Muito interessado(a)
- ☐ Interessa-me ligeiramente
- ☐ Interessa-me pouco
- ☐ Nada interessado(a)

Teste de aceitabilidade

Se tem intolerância ao glúten, não prove as amostras.
Tem a sua frente tem 3 amostras codificadas. Avalie globalmente cada uma, utilizando a escala abaixo.



Amostra 542		Amostra 896		Amostra 323	
<input type="checkbox"/>	Extremamente agradável	<input type="checkbox"/>	Extremamente agradável	<input type="checkbox"/>	Extremamente agradável
<input type="checkbox"/>	Muito agradável	<input type="checkbox"/>	Muito agradável	<input type="checkbox"/>	Muito agradável
<input type="checkbox"/>	Agradável	<input type="checkbox"/>	Agradável	<input type="checkbox"/>	Agradável
<input type="checkbox"/>	Ligeiramente agradável	<input type="checkbox"/>	Ligeiramente agradável	<input type="checkbox"/>	Ligeiramente agradável
<input type="checkbox"/>	Indiferente	<input type="checkbox"/>	Indiferente	<input type="checkbox"/>	Indiferente
<input type="checkbox"/>	Ligeiramente desagradável	<input type="checkbox"/>	Ligeiramente desagradável	<input type="checkbox"/>	Ligeiramente desagradável
<input type="checkbox"/>	Desagradável	<input type="checkbox"/>	Desagradável	<input type="checkbox"/>	Desagradável
<input type="checkbox"/>	Muito desagradável	<input type="checkbox"/>	Muito desagradável	<input type="checkbox"/>	Muito desagradável
<input type="checkbox"/>	Extremamente desagradável	<input type="checkbox"/>	Extremamente desagradável	<input type="checkbox"/>	Extremamente desagradável

Obrigada pela participação 😊

7.6 APÊNDICE VI – TABELA DOS VETORES PRÓPRIOS

Tabela XIV – Vetores próprios da análise de componentes principais relativa à fase II.

	Fator 1	Fator 2	Fator 3	Fator 4	Fator 5	Fator 6	Fator 7	Fator 8
a_w	0,2192	-0,9280	-0,0788	-0,1823	0,2198	-0,0533	0,0153	0,0010
% humidade	0,7254	-0,6233	-0,1717	0,0282	-0,1798	0,1500	0,0140	0,0013
% cinzas	0,9760	0,0196	0,1411	-0,1270	-0,0902	-0,0495	0,0188	-0,0057
% proteína	0,9255	-0,2432	0,0626	0,1568	-0,0944	-0,2162	-0,0073	0,0024
Cálcio (mg/100 g)	0,8602	0,1711	0,3076	-0,3632	-0,0153	0,0614	-0,0144	0,0033
Vitamina D	0,5066	0,6800	-0,4609	-0,2556	0,0111	-0,0549	0,0039	0,0004
L^*	-0,9449	-0,2009	-0,1102	-0,1263	-0,1867	-0,0612	0,0042	0,0023
L^*/b^*	-0,8129	-0,5167	-0,0246	-0,2542	-0,0714	-0,0350	-0,0249	-0,0032
dureza (N)	-0,9292	0,2585	0,2251	-0,1229	-0,0330	-0,0431	0,0333	0,0014

7.7 APÊNDICE VII – RESULTADOS DA ANÁLISE DE CORRESPONDÊNCIAS

Tabela XV – Matriz com os resultados da análise de correspondências.

	Sexo feminino	Sexo masculino	36 - 45	46 - 55	56 - 65	66 - 75	Mais de 75	542 - extremamente desagradável	542 - desagradável	542 - ligeiramente desagradável	542 - indiferente	542 - ligeiramente agradável	542 - agradável	542 - muito agradável	542 - extremamente agradável	966 - extremamente desagradável	966 - desagradável	966 - ligeiramente desagradável	966 - indiferente	966 - ligeiramente agradável	966 - muito agradável	14	4	323 - ligeiramente desagradável	323 - indiferente	323 - ligeiramente agradável	323 - agradável	323 - muito agradável	13	8
			43	0	1	11	12	13	6	1	3	3	5	7	14	9	1	1	2	5	17	14	4	1	1	1	6	14	13	
			43	0	1	11	12	2	2	0	1	0	0	2	2	2	1	0	0	0	2	4	0	2	0	0	1	5	2	0
			36 - 45	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	
			46 - 55	11	2	0	13	0	0	0	3	1	0	1	5	3	0	1	0	2	3	6	1	0	0	3	3	2	5	
			56 - 65	12	2	0	0	14	0	0	0	2	4	2	3	2	1	0	1	1	5	5	2	0	1	3	4	5	1	
			66 - 75	13	2	0	0	0	15	0	1	1	0	1	4	3	1	0	1	4	8	1	1	1	1	0	1	9	4	0
			Mais de 75	6	2	0	0	0	8	0	0	0	0	1	4	3	0	0	0	0	4	2	2	0	0	0	3	3	2	
			542 - extremamente desagradável	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0
			542 - desagradável	3	1	0	3	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	2	0	1	0	1	0	0	2	
			542 - ligeiramente desagradável	3	0	0	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	1	1	1	0	0	
			542 - indiferente	5	0	0	0	4	1	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0	1	2	1	0	0	2	2	1	0	
			542 - ligeiramente agradável	7	2	1	1	2	4	1	0	0	0	9	0	0	0	0	0	0	6	2	1	0	0	1	6	2	0	
			542 - agradável	14	2	0	5	3	4	4	0	0	0	0	16	0	0	1	0	2	6	7	0	0	0	1	6	7	2	
			542 - muito agradável	9	2	0	3	2	3	3	0	0	0	0	0	11	0	0	0	0	1	4	2	4	0	0	0	2	5	4
			542 - extremamente agradável	1	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	2	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	2	0	0
			896 - ligeiramente desagradável	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
			896 - indiferente	2	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	2	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	
			896 - ligeiramente agradável	5	2	0	2	1	4	0	0	2	1	1	0	2	1	0	0	0	7	0	0	0	1	0	1	4	1	0
			896 - agradável	17	4	1	3	5	8	4	1	0	1	2	6	4	1	0	0	0	21	0	0	0	0	4	11	3	3	
			896 - muito agradável	14	0	0	6	5	1	2	0	2	0	1	2	2	0	0	0	0	0	14	0	0	0	0	3	7	4	
			896 - extremamente agradável	4	2	0	1	2	1	2	0	0	0	1	1	4	0	0	0	0	0	0	6	0	0	1	0	4	1	
			323 - ligeiramente desagradável	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
			323 - indiferente	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
			323 - ligeiramente agradável	6	1	0	3	3	1	0	1	1	1	2	1	1	0	0	1	0	1	4	0	1	0	0	7	0	0	0
			323 - agradável	14	5	0	3	4	9	3	0	0	1	2	6	6	2	2	0	1	4	11	3	0	0	0	19	0	0	0
			323 - muito agradável	13	2	1	2	5	4	3	0	0	0	1	2	7	5	0	0	0	1	3	7	4	0	0	0	0	15	0
			323 - extremamente agradável	8	0	0	5	1	0	2	0	2	0	0	0	4	0	0	0	0	0	3	4	1	0	0	0	0	0	8

8 ANEXOS

8.1 ANEXO I – FICHAS TÉCNICAS DOS NUTRIENTES USADOS PARA ENRIQUECIMENTO

8.1.1 PROTEÍNA DO SORO DO LEITE



Volactive UltraWhey 90 Technical Data Sheet

Product

Whey protein isolate 90%

Description

Volactive UltraWhey 90 is manufactured from sweet cheese whey using cross-flow membrane filtration. The resulting protein concentrate is spray-dried. This product provides an excellent source of natural protein for use in a variety of food and beverage applications.

Chemical properties	Typical	Min/Max	Test Reference
Protein % (Nx6.38, dry matter)	93.0	91.0 min	NIR (cal. to Dumas)
Moisture %	4.5	5.5 max	Moisture balance
Ash %	2.0	3.0 max	NIR (cal. to oven, 550°C)
Lactose %	2.5	3.0 max	NIR (cal. to HPLC)
Fat %	0.2	0.6 max	NIR (cal. to Rose Gottlieb)
pH	6.2	5.8 min	pH meter (10% solution)
Physical properties	Typical		Test Reference
Appearance	White to cream powder		Subjective
Taste/ Flavour	Clean taste, no off flavours		Subjective
Insolubility Index, mL/50mL	< 0.20		Centrifuge (10% solution)
Scorched Particles	Disc A		ADPI
Bulk density, g/mL	0.46		Tapped
Microbiological properties	Typical	Min/Max	Test Reference
Total Viable Count, cfu/g	<5,000	10,000 max	ISO 4833:2003
Enterobacteriaceae, cfu/g	Not detected	10 max	ISO 21528-2:2004
Yeasts & Moulds, cfu/g	Not detected	50 max	ISO 21527-2:2008
E. coli, cfu/25g	Not detected	Not detected	ISO 16649-2:2001
Salmonella, cfu/25g	Not detected	Not detected	ISO 6579:2002
S. aureus, cfu/25g	Not detected	10 max	ISO 6888-1:1999

Intended use

Whey protein isolate is intended for use in products for the general population and has not undergone a food safety risk assessment to determine its suitability for use in products designed for vulnerable or sensitive groups within the population.

Packaging

Available in 20kg net weight bags made from fully strippable food grade packaging that complies with Regulation (EC) No. 1935/2004 on materials and articles intended to come into contact with food. The product is contained within an inner heat-sealed, poly-liner with an outer multi-wall paper sack.

Shelf life and storage

Twenty four months from date of manufacture when stored in the original packaging at a cool dry place; away from strong flavours or odours and any aromatic materials.


Tariff code

3502 2091

For further information contact

Volac International Ltd, 50 Fishers Lane, Orwell, Royston, SG8 5QX, Hertfordshire, UK.
Tel: +44(0)1223 206818; volactiveorders@volac.com; www.volac.com

8.1.2 PROTEÍNA DE ARROZ



Product Sheet

Document code : SIS 06.01.022/ed.N
 Issue date : 23/12/2003
 Revision date : 05/07/2012
 Issued by : ADE (QA Specialist)
 Controlled by: DVF (QC Mgr) & PGN (Production Mgr)
 Released by: NCX (QA Mgr)

Product	Remypro N80+
Labelling EU	Rice protein *
Description	Product extracted during the rice starch production, obtained by wet milling, sieving, separation, concentration and drying
Customs code	2303 10 90
Certification	Kosher and Pareve; 1K Kosher - Rabbi Menaham Haddad K-ID: QRD-HCRG DigitalKosher: www.dk.com
Product codes / packaging	951013 25 kg multiply paper bags on stretch wrapped pallets
Storage precautions	Product has to be stored in its unopened original packaging in a dry place, free from odours (solvents, combustibles, flavours, ...), insects and rodents. Under these conditions the product can be stored for 2 years from date of production.

Organoleptic evaluation	description
Taste	typical
Colour	amber

Specification sheet

Physico-chemical measurements	min	max	unit	method	Frequency
Moisture content		12,0	%	IR	every batch
Protein content (N * 6,25)	79		%/ds	Kjeldahl	every batch
Ash content		2,0	%/ds	oven 900°C / 2 h	every batch
Fat content (solvent extraction)		5	%/ds	Soxhlet	every batch
Sieving < 150 µm	92		%	Laser Diffraction	every batch

Microbiological measurements	max	unit	method	Frequency
Total count	10.000	n/g	Acc ISO 4833	every batch
Yeasts and moulds	1.000	n/g	Acc ISO 21527/2	every batch *
Enterobacteriaceae	500	n/g	Acc ISO 21528/2	every batch

adapted from previous specification version = *

BENE-O-Remy NV • Remylaan 4 • 3018 Leuven-Wijgmaal • Belgium • Phone: +32 16 248 511 • Fax: +32 16 44 01 44 • www.BENE-O-Remy.com • info@BENE-O-Remy.com

8.1.3 ISOLADO DE ERVILHA

Product Sheet **Pisane® M9**

Pisane® is a range of pea protein isolates extracted from the yellow pea, a natural and gluten free raw material. Pisane® M9 is suitable for Meat, Poultry, Fish and Vegetarian food, Sauces, and Textured protein, and improves the product's texture after thermal treatment.



Tel +32(0) 69 44 66 00
Fax +32(0) 69 44 66 22

Email
sales@cosucra.com

visit our website :
<http://www.cosucra.com>

Specifications (Analytical methods available on request)

Dry matter (D.M.) 95 +/- 2%

Composition based on D.M

Proteins (N x 6.25) 88 +/- 2%
Fat (PE extract) max 1.5%
Carbohydrates max 3.0%
Ash max 6.0%

Microbiology

Escherichia coli absent/1g
Listeria Monocytogenes absent/25g
Salmonella absent/25g
Total Coliforms max 10/g
Total Plate Count (mesophilic bacteria) max 20.000/g
Yeasts and Moulds max 50/g

Typical Data**General Characteristics**

Aflatoxines B1	< 2 ppb	Heavy metals (Pb, Cd, Hg, As)	max 0.5 ppm
Colour	cream	Ochratoxin A	< 3 ppb
Density (after packing)	0.40 kg/l	pH (10% in water)	~ 7.8
Granulometry	< 200 µm	Taste	neutral

Nutritional Characteristics: Average amino acids content (g/100 g proteins)

Alanine	4.3	Lysine	7.2
Arginine	8.7	Methionine	1.1
Aspartic acid	11.5	Phenylalanine	5.5
Cystine	1.0	Proline	4.5
Glutamic Acid	16.8	Serine	5.3
Glycine	4.1	Threonine	3.9
Histidine	2.5	Tryptophan	1.0
Isoleucine	4.5	Tyrosine	3.8
Leucine	8.4	Valine	5.0

Labelling

Pea protein isolate, pea protein, vegetable protein.

Nutrition Labelling (values expressed per 100g commercial product)

Caloric Value (energy)	352 kcal, 1495 kJ	Fat	1.3 g
Carbohydrates	0.4 g (2.7 g) (1)	of which saturated	0.2 g
of which sugars	0 g	Protein (N x 6.25)	83.6 g
Dietary Fibre	2.3 g	Sodium	2.0 g

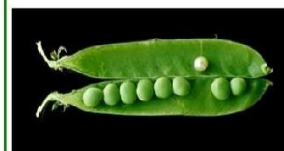
(1) Including dietary fibre with a caloric value of 2kcal/g, conformed to EU directive 2008/100 & subject to local regulations

Certification

KOSHER & HALAL (on demand) certified ingredient.
Does not contain GMO's or GMO-derived components. Not produced using GMO-based technology (not concerned by EC 1829/2003 and EC 1830/2003).

Allergens

No labelling required according to EC legal requirements for Allergen Labelling 2000/13/EC as amended by Directives 2003/89/EC, 2005/26/EC, 2006/142/EC & 2007/68/EC.

SOLUTIONS**Natural**

- Clean label ("pea protein")
- GMO free
- Low Allergenic
- Low in anti-nutritional factors
- High tolerance

Nutrition & Health

- Balanced amino acid profil
- Not deposited in the body as fat
- Provides satiety
- Rich in valuable amino acids for weight control, sports & medical food

Technological

- Good emulsifying properties
- Low impact on product texture

Cosucra Groupe Warcoing. This information is believed to be true, accurate and reliable to the best of our knowledge. It is the user's responsibility to determine the conditions for his own and specific purpose or use, especially regarding the existing regulations and/or the practise of any industrial property rights.

PTPM01E11-EU 03/2011

1

8.1.4 LACTATO DE CÁLCIO



GALAXIUM PEARLS EXCEL

CLPRL5H / galactic ref.

CALCIUM LACTATE PENTAHYDRATE / product name

DESCRIPTION

Galaxium Pearls Excel is the calcium salt of natural L(+) lactic acid produced by fermentation. Galaxium Pearls Excel has a very high purity which improves the solubility in various food applications while decreasing interactions such as oxidation and separation.

Its innovative shape allows high performance in terms of solubility, dissolution rate, floability and floodability. Galaxium Pearls Excel is formulated to exceed the highest quality standards of the food industry.

PHYSICO-CHEMICAL PROPERTIES

Chemical name		Calcium 2-Hydroxypropanoate pentahydrate
Molecular weight	g/mol	308
Molecular formula		$C_5H_{12}O_7Ca$
Particle size	μm	99% between 100 - 710 μm
Solubility in water (@ 25°C/77°F)	g/100 mL	9
Solubility in water (1g/30 mL)	-	Passes test
Dissolution rate	1000 mg/250 mL	38 sec
Hydrate form		Penta
Form		Free flowing and non dusting pearls
pH (5g product + 95g water)	-	6.0 - 8.0
Loss on drying	% w/w	22 - 27

SENSORY CHARACTERISTICS

Color	-	White
Odor	-	Neutral
Taste	-	Neutral

PURITY

Appearance of solution	-	Passes test
Positive test of calcium	-	Passes test
Positive test of lactate	-	Passes test
Calcium lactate content (as anhydrous)	% w/w	98 - 101
Calcium content (as anhydrous)	% w/w	16.5 - 20.1
Calcium content	% w/w	13.1 - 14.5
Heavy metals (as Pb)	ppm	Max. 5
Iron	ppm	Max. 25
Chloride	ppm	Max. 80
Sulphate	ppm	Max. 400
Phosphate	ppm	Max. 150
Lead	ppm	Max. 2
Arsenic	ppm	Max. 1
Mercury	ppm	Max. 1
Fluoride	ppm	Max. 15
Reducing substances (sugars)	-	Passes test
Volatile fatty acids	-	Passes test
Acidity - alkalinity	-	Passes test (acidity)
Magnesium and alkali salts	% w/w	Max. 1
Mesophilic bacteria	counts/g	Max. 1000
Moulds	counts/g	Max. 100
Yeasts	counts/g	Max. 50

REGISTRATION

Labeling	E 327
CAS number	28305-25-1
GRAS status	Yes
Complies with	Eur Reg 231/2012
Latest edition	FCC - JSFA* - JECFA* - Kosher - Halal

PACKAGING

See packaging list

STORAGE CONDITIONS

Dry, well ventilated room

SHELF-LIFE

48 months

8.1.5 VITAMINA D₃

Product Information

Product Data Sheet

Vitamin D3 Crystalline

Description

Vitamin D3 Crystalline is a crystalline powder containing 40 000 000 IU vitamin D₃ per gram (1 000 000 µg cholecalciferol per gram).

Product identification

Product code: 50 0927 8

Chemical name: (5Z,7E)-9,10-secocholesta-5,7,10(19)-trien-3β-ol

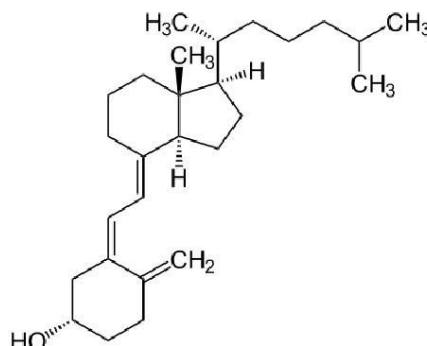
Synonyms: cholecalciferol; calciol; vitamin D₃

CAS No.: 67-97-0

EINECS No.: 200-673-2

Empirical formula: C₂₇H₄₄O


Molecular mass: 384.6 g/mol



Specifications

Appearance:	crystalline powder
Colour:	white to almost white
Identity:	corresponds
Specific rotation, 589 nm (c= 0.8 in ethanol 96%):	+105° to +112°
Maximum UV absorption in ethanol (A 1%, 1 cm at 263-267 nm):	460 - 500
Loss on drying:	max. 0.1%
Related substances (Ph.Eur.)	
• 5,6-trans Vitamin D3 (impurity A)	max. 0.1%
• Unspecified impurities (each)	max. 0.10%
• Total	max. 1.0%
Assay:	97.0-102.0%

8.2 ANEXO II – BOLETINS ANALÍTICOS DA DETERMINAÇÃO DO TEOR DE VITAMINA D

 SILLIKER a Mérieux NutriSciences Company		BOLETIM ANALÍTICO N° 96277/EG1/16			
PRODUTO: BOLACHA REFERÊNCIA: F1 ACONDICIONAMENTO: Embalagem de origem DATA DA RECEPÇÃO: 2016/11/24 AMOSTRA: 2016/088981 MARCA: FORNECEDOR: DATA EMB./FABRICO: CAPACIDADE: DATA DE VALIDADE: LOTE:		CEREALIS PRODUTOS ALIMENTARES, S.A. Rua Manuel Gonçalves Lage, 988 Águas Santas 4425-122 MAIA N° CLIENTE: K			
DATA DA COLHEITA: LOCAL: SECÇÃO:					
RESULTADOS ANALÍTICOS					
DETERMINAÇÃO	MÉTODO	DATA DE INÍCIO	RESULTADO	UNIDADE	CRITÉRIOS
Det de vitamina D3 (HPLC/UV-VIS)	EN 12821:09 * #	2016/11/25		6 µg/kg	(0) ±20% IER
Observações/Avaliação da conformidade: (1)-Rotulagem, (2)-Especificações, (3)-Legislação. Colheita da responsabilidade do cliente. * # - Método subcontratado não acreditado. Ordem de compra CSV.2171146					

NOTA: O boletim analítico refere-se apenas às amostras analisadas, não podendo ser generalizado a partidas ou lotes, salvo nos casos especificamente mencionados. Este documento é considerado confidencial, não podendo ser reproduzido a não ser na íntegra, nem utilizado para fins publicitários, sem a nossa prévia autorização escrita.

Data de emissão: 2016/12/12

O Director Geral
Fátima Castro

IQ.09.0

pág 1 de 1

SILLIKER PORTUGAL, S.A.
 Rua Industrial dos Terços, 44
 4410-477 Canelas - V. N. Gaia
 Tel. (+351) 22 715 08 20
 info@silliker.pt
www.silliker.pt



BOLETIM ANALÍTICO N° 96280/EGI/16

PRODUTO: BOLACHA
 REFERÊNCIA: F2
 ACONDICIONAMENTO: Embalagem de origem
 DATA DA RECEPÇÃO: 2016/11/24 AMOSTRA: 2016/088982
 MARCA:
 FORNECEDOR:
 DATA EMB./FABRICO: CAPACIDADE:
 DATA DE VALIDADE: LOTE:

CEREALIS PRODUTOS ALIMENTARES, S.A.

Rua Manuel Gonçalves Lage, 988
 Águas Santas
 4425-122 MAIA

N° CLIENTE: K

DATA DA COLHEITA:

LOCAL:

SECÇÃO:

RESULTADOS ANALÍTICOS

DETERMINAÇÃO	MÉTODO	DATA DE INÍCIO	RESULTADO	UNIDADE	CRITÉRIOS
Det de vitamina D3 (HPLC/UV-VIS)	EN 12821:09 * #	2016/11/25	6 µg/kg		(0) ±20% IER

Observações/Avaliação da conformidade:

(1)-Rotulagem, (2)-Especificações, (3)-Legislação. Colheita da responsabilidade do cliente. * # - Método subcontratado não acreditado. Ordem de compra CSV.2171146

NOTA: O boletim analítico refere-se apenas às amostras analisadas, não podendo ser generalizado a partidas ou lotes, salvo nos casos especificamente mencionados.
 Este documento é considerado confidencial, não podendo ser reproduzido a não ser na íntegra, nem utilizado para fins publicitários, sem a nossa prévia autorização escrita.

Data de emissão: 2016/12/12

O Director Geral
Fátima Castro

IQ.09.0

pág 1 de 1

SILLIKER PORTUGAL, S.A.
 Rua Industrial dos Terços, 44
 4410-477 Canelas - V. N. Gaia
 Tel. (+351) 22 715 08 20
 info@silliker.pt
www.silliker.pt



BOLETIM ANALÍTICO Nº 96283/EGI/16

PRODUTO: BOLACHA REFERÊNCIA: F3 ACONDICIONAMENTO: Embalagem de origem DATA DA RECEPÇÃO: 2016/11/24 AMOSTRA: 2016/088984 MARCA: FORNECEDOR: DATA EMB./FABRICO: CAPACIDADE: DATA DE VALIDADE: LOTE:	CEREALIS PRODUTOS ALIMENTARES, S.A. Rua Manuel Gonçalves Lage, 988 Águas Santas 4425-122 MAIA Nº CLIENTE: K
DATA DA COLHEITA: LOCAL: SECÇÃO:	

RESULTADOS ANALÍTICOS

DETERMINAÇÃO	MÉTODO	DATA DE INÍCIO	RESULTADO	UNIDADE	CRITÉRIOS
Det de vitamina D3 (HPLC/UV-VIS)	EN 12821:09 * #	2016/11/25	30 µg/kg		(0) ±20% IER

— Observações/Avaliação da conformidade: —
 (1)-Rotulagem, (2)-Especificações, (3)-Legislação. Colheita da responsabilidade do cliente. * # - Método subcontratado não acreditado. Ordem de compra CSV.2171146.

NOTA: O boletim analítico refere-se apenas às amostras analisadas, não podendo ser generalizado a partidas ou lotes, salvo nos casos especificamente mencionados. Este documento é considerado confidencial, não podendo ser reproduzido a não ser na íntegra, nem utilizado para fins publicitários, sem a nossa prévia autorização escrita.

Data de emissão: 2016/12/12

O Director Geral

Fátima Castro

IQ.09.0

pág 1 de 1

SILLIKER PORTUGAL, S.A.
 Rua Industrial dos Terços, 44
 4410-477 Canelas - V. N. Gaia
 Tel. (+351) 22 715 08 20
 info@silliker.pt
www.silliker.pt



BOLETIM ANALÍTICO Nº 96284/EGI/16

PRODUTO: BOLACHA
 REFERÊNCIA: F4
 ACONDICIONAMENTO: Embalagem de origem
 DATA DA RECEPÇÃO: 2016/11/24 AMOSTRA: 2016/088985
 MARCA:
 FORNECEDOR:
 DATA EMB./FABRICO: CAPACIDADE:
 DATA DE VALIDADE: LOTE:

CEREALIS PRODUTOS ALIMENTARES, S.A.

Rua Manuel Gonçalves Lage, 988
 Águas Santas
 4425-122 MAIA

Nº CLIENTE: K

DATA DA COLHEITA:

LOCAL:

SECÇÃO:

RESULTADOS ANALÍTICOS

DETERMINAÇÃO	MÉTODO	DATA DE INÍCIO	RESULTADO	UNIDADE	CRITÉRIOS
Det de vitamina D3 (HPLC/UV-VIS)	EN 12821:09 * #	2016/11/25		10 µg/kg	(0) ±20% IER

— Observações/Avaliação da conformidade: —

(1)-Rotulagem, (2)-Especificações, (3)-Legislação. Colheita da responsabilidade do cliente. * # - Método subcontratado não acreditado. Ordem de compra CSV.2171146.

NOTA: O boletim analítico refere-se apenas às amostras analisadas, não podendo ser generalizado a partidas ou lotes, salvo nos casos especificamente mencionados.
 Este documento é considerado confidencial, não podendo ser reproduzido a não ser na íntegra, nem utilizado para fins publicitários, sem a nossa prévia autorização escrita.

Data de emissão: 2016/12/12

O Director Geral

Fátima Castro

IQ.09.0

pág 1 de 1

SILLIKER PORTUGAL, S.A.
 Rua Industrial dos Terços, 44
 4410-477 Canelas - V. N. Gaia
 Tel. (+351) 22 715 08 20
 info@silliker.pt
www.silliker.pt



BOLETIM ANALÍTICO Nº 97414/EGI/16

PRODUTO: BOLACHA REFERÊNCIA: F5 ACONDICIONAMENTO: Embalagem de origem DATA DA RECEPÇÃO: 2016/11/24 AMOSTRA: 2016/088986 MARCA: FORNECEDOR: DATA EMB./FABRICO: CAPACIDADE: DATA DE VALIDADE: LOTE:	CEREALIS PRODUTOS ALIMENTARES, S.A. Rua Manuel Gonçalves Lage, 988 Águas Santas 4425-122 MAIA Nº CLIENTE: K
DATA DA COLHEITA: LOCAL: SECÇÃO:	

RESULTADOS ANALÍTICOS

DETERMINAÇÃO	MÉTODO	DATA DE INÍCIO	RESULTADO	UNIDADE	CRITÉRIOS
Det de vitamina D3 (HPLC/UV-VIS)	EN 12821:09 * #	2016/11/25	25 µg/kg		(0) ±20% IER

— Observações/Avaliação da conformidade: —

(1)-Rotulagem, (2)-Especificações, (3)-Legislação. Colheita da responsabilidade do cliente. (0) - IER - Incerteza expandida relativa. * # - Método subcontratado não acreditado. OC: CSV.2171146

NOTA: O boletim analítico refere-se apenas às amostras analisadas, não podendo ser generalizado a partidas ou lotes, salvo nos casos especificamente mencionados. Este documento é considerado confidencial, não podendo ser reproduzido a não ser na íntegra, nem utilizado para fins publicitários, sem a nossa prévia autorização escrita.

Data de emissão: 2016/12/15

O Director Geral
Fátima Castro

IQ.09.0

pág 1 de 1

SILLIKER PORTUGAL, S.A.
 Rua Industrial dos Terços, 44
 4410-477 Canelas - V. N. Gaia
 Tel. (+351) 22 715 08 20
 info@silliker.pt
www.silliker.pt



BOLETIM ANALÍTICO Nº 96285/EGI/16

PRODUTO: BOLACHA REFERÊNCIA: F6 ACONDICIONAMENTO: Embalagem de origem DATA DA RECEPÇÃO: 2016/11/24 AMOSTRA: 2016/088987 MARCA: FORNECEDOR: DATA EMB./FABRICO: CAPACIDADE: DATA DE VALIDADE: LOTE:	CEREALIS PRODUTOS ALIMENTARES, S.A. Rua Manuel Gonçalves Lage, 988 Águas Santas 4425-122 MAIA Nº CLIENTE: K
DATA DA COLHEITA: LOCAL: SECÇÃO:	

RESULTADOS ANALÍTICOS

DETERMINAÇÃO	MÉTODO	DATA DE INÍCIO	RESULTADO	UNIDADE	CRITÉRIOS
Det de vitamina D3 (HPLC/UV-VIS)	EN 12821:09 * #	2016/11/25	21 µg/kg		(0) ±20% IER

— Observações/Avaliação da conformidade: —
 (1)-Rotulagem, (2)-Especificações, (3)-Legislação. Colheita da responsabilidade do cliente. * # - Método subcontratado não acreditado. Ordem de compra CSV.2171146.

NOTA: O boletim analítico refere-se apenas às amostras analisadas, não podendo ser generalizado a partidas ou lotes, salvo nos casos especificamente mencionados.
 Este documento é considerado confidencial, não podendo ser reproduzido a não ser na íntegra, nem utilizado para fins publicitários, sem a nossa prévia autorização escrita.

Data de emissão: 2016/12/12

O Director Geral
Fátima Castro

 IQ.09.0
 pág 1 de 1

SILLIKER PORTUGAL, S.A.
 Rua Industrial dos Terços, 44
 4410-477 Canelas - V. N. Gaia
 Tel. (+351) 22 715 08 20
 info@silliker.pt
www.silliker.pt



BOLETIM ANALÍTICO N° 96286/EGI/16

PRODUTO: BOLACHA REFERÊNCIA: F7 ACONDICIONAMENTO: Embalagem de origem DATA DA RECEPÇÃO: 2016/11/24 AMOSTRA: 2016/088988 MARCA: FORNECEDOR: DATA EMB./FABRICO: CAPACIDADE: DATA DE VALIDADE: LOTE:	CEREALIS PRODUTOS ALIMENTARES, S.A. Rua Manuel Gonçalves Lage, 988 Águas Santas 4425-122 MAIA N° CLIENTE: K
DATA DA COLHEITA: LOCAL: SECÇÃO:	

RESULTADOS ANALÍTICOS

DETERMINAÇÃO	MÉTODO	DATA DE INÍCIO	RESULTADO	UNIDADE	CRITÉRIOS
Det de vitamina D3 (HPLC/UV-VIS)	EN 12821:09 * #	2016/11/25	17 µg/kg		(0) ±20% IER

— Observações/Avaliação da conformidade: —

(1)-Rotulagem, (2)-Especificações, (3)-Legislação. Colheita da responsabilidade do cliente. * # - Método subcontratado não acreditado. Ordem de compra CSV.2171146.

NOTA: O boletim analítico refere-se apenas às amostras analisadas, não podendo ser generalizado a partidas ou lotes, salvo nos casos especificamente mencionados.
 Este documento é considerado confidencial, não podendo ser reproduzido a não ser na íntegra, nem utilizado para fins publicitários, sem a nossa prévia autorização escrita.

Data de emissão: 2016/12/12

O Director Geral

Fátima Castro

IQ.09.0

pág 1 de 1

SILLIKER PORTUGAL, S.A.
 Rua Industrial dos Terços, 44
 4410-477 Canelas - V. N. Gaia
 Tel. (+351) 22 715 08 20
 info@silliker.pt
www.silliker.pt



BOLETIM ANALÍTICO Nº 96287/EGI/16

PRODUTO: BOLACHA
 REFERÊNCIA: F8
 ACONDICIONAMENTO: Embalagem de origem
 DATA DA RECEPÇÃO: 2016/11/24 AMOSTRA: 2016/088989
 MARCA:
 FORNECEDOR:
 DATA EMB./FABRICO: CAPACIDADE:
 DATA DE VALIDADE: LOTE:

CEREALIS PRODUTOS ALIMENTARES, S.A.

Rua Manuel Gonçalves Lage, 988
 Águas Santas
 4425-122 MAIA

Nº CLIENTE: K

DATA DA COLHEITA:

LOCAL:

SECÇÃO:

RESULTADOS ANALÍTICOS

DETERMINAÇÃO	MÉTODO	DATA DE INÍCIO	RESULTADO	UNIDADE	CRITÉRIOS
Det de vitamina D3 (HPLC/UV-VIS)	EN 12821:09 * #	2016/11/25	15 µg/kg		(0) ±20% IER

— Observações/Avaliação da conformidade: —

(1)-Rotulagem, (2)-Especificações, (3)-Legislação. Colheita da responsabilidade do cliente. * # - Método subcontratado não acreditado. Ordem de compra CSV.2171146.

NOTA: O boletim analítico refere-se apenas às amostras analisadas, não podendo ser generalizado a partidas ou lotes, salvo nos casos especificamente mencionados. Este documento é considerado confidencial, não podendo ser reproduzido a não ser na íntegra, nem utilizado para fins publicitários, sem a nossa prévia autorização escrita.

Data de emissão: 2016/12/12

O Director Geral

Fátima Castro

IQ.09.0

pág 1 de 1

SILLIKER PORTUGAL, S.A.
 Rua Industrial dos Terços, 44
 4410-477 Canelas - V. N. Gaia
 Tel. (+351) 22 715 08 20
 info@silliker.pt
www.silliker.pt